



Kandidaatintutkielma

Ihmisen T-soluleukemiavirus tyyppi 1 ja aikuisen T-soluleukemia/lymfooma

Suvi Tikkakoski

Oulun yliopisto
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta
2020

Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet	3
1. Virukset syövän aiheuttajina	5
2. Ihmisen T-soluleukemiaviruksen tyyppi 1	6
2.1. HTLV-perheen viruksien genotyypit	6
2.2. HTLV-1:n rakenne	7
2.2.1 Tax	8
2.2.2. Rex	9
2.2.3. p13 ^{II} ja p30 ^{II}	9
2.2.4 p12 ^I ja p8 ^I	10
2.2.5 HBZ	10
2.3. Välittyminen ja invaasio	11
2.4. Patogeneesi	14
3. Aikuisen T-soluleukemia	17
3.1. Taudinkuva	17
3.2. Diagnostiikka ja oireet	18
3.3. Immunohistokemia	21
3.4. Geenimutaatiot	22
3.5. Epigeneettiset muutokset	25
4. Aikuisen T-soluleukemian hoitokeinot	28
4.1. Seuranta	30
4.1.1. Solunsalpaajayhdistelmät	30
4.1.2. Interferoni-alfa (IFN- α) ja zidovudine (AZT)	31
4.1.3. AlloHSCT	32
4.1.4. Uudet lääkeaineet	32
4.1.5. Tukeva hoito	34
4.2. Hoitostrategia	34
6. Kirjallisuusviitteet	36

Käytetyt lyhenteet

HTLV	Human T-cell leukemia virus
HTLV-1	Human T-cell leukemia virus type 1
HAM/TSP	myelopatia/trooppinen spastinen parapareesi
LTR	long terminal repeat
TRE	Tax responsive element
ORF	open reading frame
CREB	cAMP responsive element binding protein
ExRE	Rex responsive elemen
SRF	serum-responsive factor
NF-κB	nuclear factor κB
IKK	IκB kinase
TIGAR	TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator
GLUT-1	glukoosikuljettaja
HSPG	heparaanisulfaattiproteoglykaani
VEGF-165	vascular endothelial growth factor
NRP-1	neuropilin-1
MHC	major histocompatibility complex
bZIP	basic leusine zipper factor
HBZ	HTLV-1 bZIP factor
Foxp3	Forkhead box P3
TGF	transforming growth factor
GADD34	growth arrest and DNA damage- inducible protein 34
mTOR	mechanistic Target of Rapamycin
LDH	laktaattidehydrogenaasi
CD	cluster of differentiation
CNAs	many copy number alterations
PD-L1	programmed death-ligand1
CpG	sytosiini guaniini dinukleotidi
CIMP	CpG island methylator phenotype

AlloHSCT	allogeeninen hematopoieettinen kantasolusiirto
IFN- α	interferoni-alfa
AZT	zidovudine
EZH	zeste
SU	subunit

1. Virukset syövän aiheuttajina

Syöpä on sairaus, jossa mutaatiot solun DNA:ssa aiheuttavat muutoksia aineenvaihdunnassa, ja saa solun jakautumaan hallitsemattomasti. Solusykli on tarkkaan säädelty prosessi, jossa solun kasvuvaiheen ja DNA:n replikaation jälkeen solu jakautuu kahdeksi tytärsoluksi. Virukset monien muiden syöpää aiheuttavien tekijöiden, eli karsinogeenien, tavoin voivat aiheuttaa mutaatioita geeneihin, jotka säätelevät normaalia solun jakaantumista, erilaistumista ja solukuolemaa eli apoptoosia. Proto-onkogeenit ovat normaalisti toimivia geenejä, joissa tapahtuvat mutaatiot saavat ne muuttumaan mahdollisesti syöpää aiheuttaviksi onkogeeneiksi, joilla on kapasiteetti aiheuttaa syöpää. Syövän kehittyminen vaatii useita mutaatioita ja solupopulaation, jolla on suurentunut kapasiteetti jakautua, selvitä, levitä ja aiheuttaa metastaaseja, eli levittää syöpäsoluja imusuoniston tai verenkierron kautta muihin kudoksiin (Cooper 2000).

Viruksilla ei ole omaa aineenvaihduntaa, joten ne tarvitsevat aitotumallisen solun proteiinikoneiston omien rakenneosiansa proteiinien koodaamiseen. Virukset infektoivat solun sitoutumalla solun pinnalla olevaan reseptoriin ja tunkeutumalla soluun tai vain luovuttamalla genominsa isäntäsoluun reiästä, jonka ne tekevät solukalvoon tuottamillaan entsyymeillä. Onnistunut pääsy soluun johtaa virusgenomin replikaatioon. DNA-virukset liittävät genominsa suoraan osaksi isäntäsolun DNA:ta, RNA-virukset tuottavat proteiinejaan lähetti-RNA:na ja retrovirukset hyödyntävät käänteiskopioijaentsyymiä RNA-genomin muuntamisessa DNA:ksi, joka liittyy osaksi jotain isäntäsolun kromosomia. Isäntäsolussa tuotetaan uusien viruksen osia, ja valmiiksi kootut virukset poistuvat solusta infektoimaan muita soluja, mahdollisesti hajottaen isäntäsolun tässä prosessissa.

Seitsemän viruksen on havaittu aiheuttavan syöpää ihmiselle. Viruksien aiheuttamien syöpien osuus kaikista syöivistä on vähintään 12 %. Silti vain pieni osuus onkogeenisten viruksien infektoimista soluista johtaa syövän kehittymiseen, sillä vaatimuksena on usein muiden syövän tarkastusleimojen (*hallmarks of cancer*) läsnäolo (Gaglia & Munger 2018). Nämä kuusi tarkastusleimaa ovat lisääntymissignaalin ylläpito, kasvuvaimentimien hiljentäminen, invaasion sekä metastaasin aktivaatio, rajaton kyky solunjakautumiseen, angiogeneesin indusointi ja solukuoleman vastustaminen. Jos jokin näistä tekijöistä on läsnä, elimistön immuunijärjestelmä on heikentynyt tai jokin muu karsinogeeni (Gaglia & Munger 2018) vaikuttaa soluun samanaikaisesti, solulla on suurentunut potentiaali muuttua syöpäsoluksi virusinfektion jälkeen. Onkogeeniset virukset luokitellaan kahteen kategoriaan: suoriin karsinogeeneihin, jotka DNA:ta mutatoimalla aiheuttavat syöpää ja epäsuoriin karsinogeeneihin, jotka voivat johtaa syöpään kroonisen infektion ja tulehdustilan aiheuttaneen mutaation seurauksena (Parsonnet 1999, zur Hausen 2001). Ihmisen

immuunijärjestelmä pyrkii ensisijaisesti tuhoamaan vieraat mikrobit, mutta joskus puolustusjärjestelmän lymfosyytit eivät toimi tarpeeksi tehokkaasti. Virukset voivat myös muuntua virioneiksi, jolloin puolustusjärjestelmä ei tunnista niitä, sillä viruksen pinnalla olevat proteiinit on poistettu. Näin virus voi pitkänkin ajan päästä aktivoitua solussa ja aloittaa replikaation. Tämän vuoksi jotkin syövät kehittyvät pitkienkin aikojen jälkeen infektiosta.

2. Ihmisen T-soluleukemiaviruksen tyyppi 1

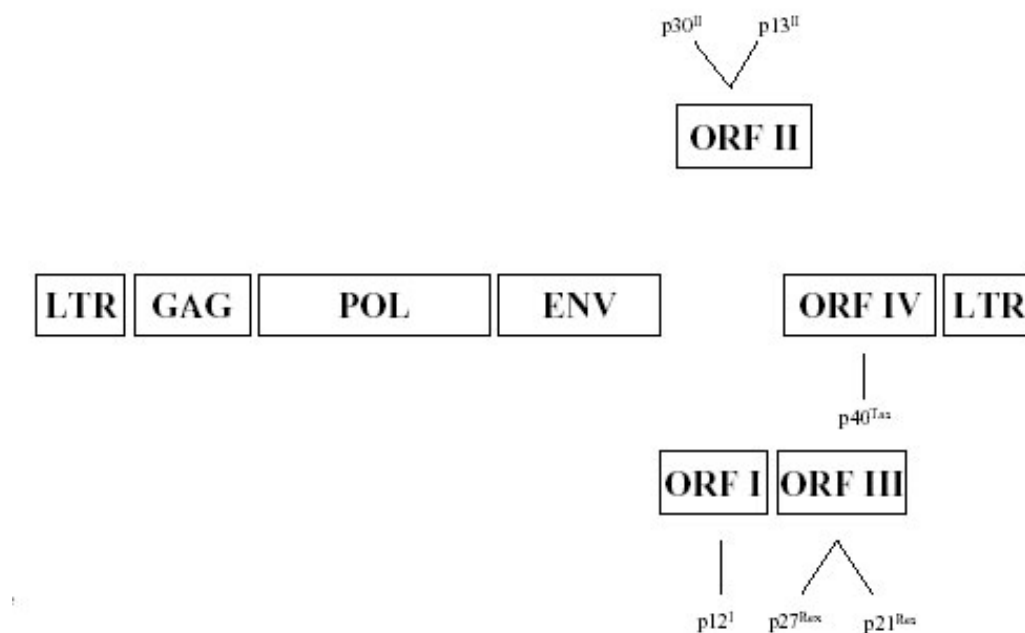
2.1. HTLV-perheen viruksien genotyypit

Ihmisen T-soluleukemiavirukset (Human T-cell leukemia virus, HTLV) ovat retroviruksia, jotka kuuluvat kädellisten T-lymfotrooppisten virusten perheeseen. HTLV-viruksia on tunnistettu neljä eri genotyyppiä: HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 ja HTLV-4, joista HTLV-1 ja HTLV-2 ovat vallitsevia muotoja maailmalla. HTLV-1 löydettiin ensimmäisenä vuonna 1980 Yhdysvalloissa (Poiesz *et al.* 1980) ja HTLV-2 alatyyppeineen A/B/C/D (Eiraku *et al.* 1996) vuonna 1982. HTLV-1 havaittiin patogeeniseksi, kun se yhdistettiin T-soluleukemiaan ja muihin tulehduksellisiin sairauksiin. HTLV-2 on huomattavasti vähemmän patogeeninen, mutta harvoissa tapauksissa infektio johtaa neurologisen sairauden kehittymiseen (Araujo & Hall 2004). Vuonna 2005 löytyi uusi muoto, HTLV-3 Etelä-Kamerunista ja HTLV-4 samoilta alueilta. Näitä viruksia ei ole toistaiseksi todettu sairauksia aiheuttaviksi (Yabes 2019).

HTLV-1 on ainoa ihmisen retrovirus, jonka on todettu aiheuttavan syöpää. Se yhdistettiin nopeasti löytymisensä jälkeen aikuisten T-soluleukemiaan/lymfoomaan, ATL/ATLL:aan. ATL on sairaus, jossa puolustusjärjestelmän jo kehittyneet T-lymfosyytit muuttuvat pahanlaatuisiksi. HTLV-1-infektiot ovat jakautuneet maailmalla pääosin Japaniin, Malesiaan, Iraniin, Keski- ja Länsi-Afrikkaan, Karibialle, Australiaan ja Keski-Itään (Proietti *et al.* 2005, Gessain & Cassar 2012). Maailmanlaajuisesti arviolta 10-20 miljoonaa ihmistä on saanut HTLV-1-virusinfektion, mutta valtaosa tapauksista pysyy oireettomana. Noin 2-5 % kantajista sairastuu ATL:ään. Virusinfektion on todettu aiheuttavan myös HTLV-1 liittyvää myelopatiaa/trooppista spastista parapareesia (HAM/TSP), johon sairastuu vain 0.25-2 % infektoituneista (Lima 2008). Vielä harvinaisemmissa tapauksissa virusinfektio voi johtaa silmän värikalvotulehdukseen, nivelsairauksiin, keuhkokuumeeseen, ihotulehduksiin, sylkirauhasten sairauksiin ja lihassairauksiin (Watanabe 1997).

2.2. HTLV-1:n rakenne

HTLV-1 on retrovirus, jonka genomi on yksijuosteista RNA:ta ja suuruudeltaan noin 9 kb. Genomi koodaa rakenteellisia ja entsyymaattisia proteiineja, jotka ovat samankaltaisia muiden retrovirusten kanssa. Viruksen genomia havainnollistetaan kuvassa 1. Gag, Pol, Pro ja Env ovat 5'-pään koodaamia proteiineja ja 3' päässä on HTLV-1:lle ainoalaatuinen pX-alue, jolla koodataan säätely- ja toisten proteiinien toimintaa täydentäviä proteiineja, esimerkiksi Rex-1- ja Tax-1-proteiineja (Martinez *et al.* 2019). Sekä 5' että 3' päät sisältävät long-terminal repeat (LTR) -alueen, joka sisältää promoottorin sekä muita säätelyelementtejä. LTR jaetaan U3-, R- ja U5-alueisiin, joista U3 vastaa proviraalisen transkription säätelystä, lähetti-RNA:n terminaatiosta ja polyadenylaation signaloinnista. Alueen Tax responsive elementin (TRE) 21 emäsparin toistojaksot toimivat Tax-proteiinin transkription aktivaattorina. Täysimittainen lähetti-RNA koodaa Pol- ja Gag-proteiinia (p55), mutta tämä pilkkotaan lopulta matriksin (p19), kapsidin (p24) ja nukleokapsidin (p15) proteiineiksi (Johnson *et al.* 2001). Kerran pilkottu lähetti-RNA koodaa Env-proteiinia ja kahdesti pilkottu Rex- ja Tax-proteiineja (Ciminale *et al.* 1992, Koralknik *et al.* 1992). Lisäksi pX-alueella sijaitsevat lukukehykset, *open reading frames* (ORFs), I, II, III, IV, jossa vaihtoehtoisella pilkkomisella koodataan useita säätelyproteiineja, jotka on havaittu viruksen infektoimissa soluissa *in vivo* sekä *in vitro*.



Kuva 1. HTLV-1-viruksen genomin kuvaannollistus.

Noin 9 kb suuruinen genomi koodaa retroviruksille tyypillisiä rakenteellisia ja entsymaattisia Gag, Env ja Pol proteiineja. ORF I-IV, HTLV-1-viruksen pX-alue, koodaa säätelyproteiineja, joita ovat Tax, Rex, p13^{II}, p30^{II}, p12^I ja p8^I. LTR-alueet molemmissa päissä sisältävät transkriptiolle välttämättömät promoottori- ja säätelyelementit. Kuvan lähde: Johnson, J. M., Harrod, R., & Franchini, G. (2001). Molecular biology and pathogenesis of the human T-cell leukaemia/lymphotropic virus Type-1 (HTLV-1). *International journal of experimental pathology*, 82(3), 135–147.

2.2.1 Tax

Tax-proteiini, p40, on 40 kDa suuruinen transkriptionaalinen aktivaattoriproteiini, jota esiintyy sekä tumassa että sytoplasmassa (Zhang *et al.* 2017). Se stimuloi transkriptiota kolmesti toistuvan 21:n emäsparin toistojaksosta U3-alueelta, NF-κB:n sitoutumisalueelta IL-2Rα-geenistä sekä CArG boxista c-fos geenistä. TGACGT motiivi on homologinen cAMP responsive element binding (CREB)-proteiinin kanssa, joten alue vuorovaikuttaa CREB-proteiinien kanssa. Viraalinen transkriptio aktivoituu, kun Tax muodostaa promoottoriin sitoutuvan kompleksin Ser¹³³-fosforyloituneen CREB-muodon (pCREB) ja solun koaktivaattorien CBP/p300 kanssa. (Kim *et al.* 2010). Tax-proteiinilla on pieni affiniteetti DNA:han, sillä se vuorovaikuttaa mielummin CREB-proteiinien kanssa, jotta näiden affiniteetti 21:n emäsparin toistojaksolle kasvaisi. Lisäksi Tax stabiloi komplekseja I ja II vuorovaikutuksellaan CREB:in kanssa (Zhao & Giam 1992). Tämän lisäksi Tax aktivoi serum-responsive factorin (SRF) aiheuttaen c-fos onkogeenin transkriptiota (Winter & Marriott 2007). Näiden tekijöiden yhteisvuorovaikutus aiheuttaa viruksen LTR-alueen

transaktivaation sekä myös aktivaatioon solun kasvuun vaikuttavissa geeneissä solun erilaistumisprosesseissa (Zhao & Giam 1992, Suzuki *et al.* 1993). Tax-proteiinin on havaittu lisäävän happiradikaalien tuotantoa solussa, mikä on yksi suurimmista DNA:n vahingoittajista. Tax myös pysäyttää solusyklin G1 vaiheen NF- κ B-signaaloinnin hyperaktivaation seurauksena, mikä johtaa solukuolemaan (Hutchison *et al.* 2018).

2.2.2. Rex

Rex, p27, on 27-kDa kokoinen fosfoproteiini, jota koodaa ORF III (Nagashima *et al.* 1986). Se sijoittuu U3/R-alueelle 3' päässä genomia (Ballaun *et al.* 1991). Rex toimii post-transkriptionaalisena säätelijänä lisäämällä pilkottujen lähetti-RNA-molekyylien, eli Env-, Gag- ja Pol-tuotteiden ekspressiota. Toisaalta ekspressoituna suurina määrinä Rex vähentää täysin pilkotun lähetti-RNA:n määrää, joka taas vähentää säätelyproteiinien transkriptiota. Se siis toimii epäsuorasti viraalisen transkription inhiboijana (Hidaka *et al.* 1988). Lisäksi Rex aktivoi pilkkomattoman lähetti-RNA:n vientiä tumasta solulimaan, mutta myös moduloi RNA:n prosessointia ennen pilkkomista, todennäköisesti stabiloimalla esiaste-RNA:ta (Inoue *et al.* 1991). Pilkotun ja pilkkomattoman lähetti-RNA:n suhteen säätely on tärkeää, jotta lopputuloksena on infektoiva virus. Rex on RNA:ta sitova proteiini, joka on kytkeytynyt cis-vaikutteiseen Rex responsive element (RxRE)-jaksoon LTR:n 3' päässä, joka erottaa polyadenylaatio-signaalin polyadenylaation paikasta. Rex-tuotteen ominaisuudet ja transaktivaatio ovat riippuvaisia RxRE-elementin toiminnasta. (Ballaun *et al.* 1991).

2.2.3. p13^{II} ja p30^{II}

p13^{II} ja p30^{II} ovat proteiineja, jotka koodataan ORF II -alueella. *In vitro* tutkimuksissa on huomattu, että nämä proteiinit eivät ole välttämättömiä viruksen jakaantumisen tai T-solujen kuolemattomuuden kannalta (Derse *et al.* 1997), joten ne ovat viime vuosina olleet intensiivisen tutkimuksen kohteena. On kuitenkin havaittu, että ORF II:lla on vaikutus viruksen infektiokykyyn *in vitro*, joten p13^{II} ja p30^{II} voivat liittyä tähän ominaisuuteen (Bartoe *et al.* 2000). P13^{II} on 13-kDa kokoinen proteiini, joka tuotetaan kerran pilkotun ORF II lähetti-RNA:sta (Koralnik *et al.* 1993). Proteiini sijoittuu mitokondrioon, jossa sillä on mahdollisesti tehtäviä soluelimen tubulaarisen verkoston konfiguraation säätelyssä. Rakenteellisten muutosten vuoksi mitokondrion sisäkalvossa tapahtuu sähköisiä potentiaalien muutoksia, joka johtaa mitokondrioiden tehokkaampaan toimintaan (Ciminale *et al.* 1992). Suurentunut energiantuotto solulle voisi teoriassa johtaa viruksen suurempaan viraaliseen morfogeneesiin, eli virusten osien muodostamisen tehostumiseen solussa (Rojo *et al.* 1998). 30 kDa-kokoinen p30^{II} tehdään pilkkomalla kahdesti pX-Tax-ORF II:n lähetti-RNA (Koralnik *et al.* 1993). Tumaan sijoittuvalla proteiinilla on homologisia alueita useiden transkriptioaktivaattorien kanssa,

joita ovat Oct-1, Oct-2, Pit-1, Engrailed, POU-M1 (Ciminale *et al.* 1992). Proteiini vuorovaikuttaa lisäksi Tax- and HBZ-proteiinien kanssa, mikä lisää niiden onkogeenisiä ominaisuuksia. P30^H tunnetaan myös nimellä TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR). TIGAR ekspressoituu voimakkaasti syöpäkasvaimissa ja tämä johtaa onkogeenien säätelyn vaikeutumiseen ja angiogeneesin lisääntymiseen (Hutchison *et al.* 2018)

2.2.4. p12^I ja p8^I

ORF I koodaa lisäksi kahta proteiinia, joiden merkitys viruksen infektoimissa soluissa on myös epäselvä. 12-kDa kokoinen p12^I ja 8-kDa kokoinen p8^I ovat kalvoon liittyviä säätelyproteiineja. p12^I sijaitsee sisäkalvostoissa ER:n ja Golgin laitteen läheisyydessä (Jesus *et al.* 2015) ja sen perustavanlaatuinen merkitys uskotaan olevan immuunivasteen estäminen vuorovaikuttamalla isäntäsolun proteiinien kanssa signaalivälityksessä (Georgieva 2018). Proteiini kiihdyttää T-solujen kasvua ja lisääntymistä interleukiini-2 (IL-2) signaloinnin välityksellä. p12^I sitoutuu IL-2 reseptoriin, joka koostuu alfa- (α), beeta- (β) ja gamma-alayksiköistä (γ_c). Proteiinin immuunipuolustusta heikentävä vaikutus juontuu sen vaikutuksesta reseptorikompleksin muodostukseen. p12^I estää β - ja γ_c -yksiköiden maturaation ja kuljetuksen solun pinnalle, jossa niiden tulisi muodostaa IL-2/IL-2R-kompleksi α -yksikön kanssa.

Tämän seurauksena T-solujen aktivaation signalointireitti muuttuu, kun STAT5-proteiinia (signal transducer ja activator of transcription 5) inhiboidaan (Georgieva 2018). p12^I:n on myös havaittu olevan tarpeellinen primäärysten lymfosyyttien infektiassa, joten proteiinin tärkein rooli saattaa olla infektion alkuvaiheessa, jossa se vaikuttaa muun muassa IL-2-reseptorin kautta (Albrecht *et al.* 2000, Johnson *et al.* 2001). p8^I on p12^I:n proteolyyttinen tuote ja se sijaitsee solukalvolla lipidilautojen päällä, jossa sen tehtävänä on toimia osana immunologista synapsia T-solun pinnalla (Jesus *et al.* 2015). Se vaikuttaa T-solujen inaktivaatioon ja parantaa viruksen välittymistä toimimalla osana solujen välille muodostuvia kanavia (Georgieva 2018). Tarkka mekanismi viruksen infektoimassa solussa on edelleen selvittämättä, mutta tutkimuksissa on selvinnyt, että solut, joista puuttuu sekä p8^I että p12^I proteiinit, ovat herkempiä tappaja-T-soluille. p8^I:lla on siis rooli HTLV-1 viruksen adaptaatiossa, selviämässä ja lisääntymisessä solussa (Georgieva 2018).

2.2.5. HBZ

Viruksen genomin miinusjuosteessa koodataan emäksistä leusiinivetoketjufaktoria (basic leusine zipper factor, bZIP), HBZ proteiinia (Gaudray *et al.* 2002). HBZ:lla on useita tehtäviä, se säätelee genomin integriteettiä, solujen kasvua, apoptoosia, autofagiaa ja immuunisysteemin torjuntaa (Zhao

2016). Tumaan läikikkäästi sijoittuvat proteiini löydettiin, kun CREB2-proteiiniin huomattiin sitoutuneen viraalinen proteiinituote sen bZIP-domeenista. Tämä todettiin HBZ:ksi. HBZ-proteiini sisältää kolme domeenia: aktivaatio-, keskus- ja bZIP-domeenin. Se vuorovaikuttaa useiden proteiinien kanssa sitoutumalla niihin bZIP-domeenillaan. Nämä kohdeproteiinit ovat c-Jun, JunB, JunD, CREB2, CREB sekä p65-alue NF- κ B-proteiinista. Lähes kaikki ovat inhiboinnin kohteita, paitsi NF- κ B ja JunD aktivoidaan. U5 and osa R-alueesta 3'LTR:ssa muodostavat promoottorin proteiinille, jota on mahdollista koodata kerran pilkottuna, mutta myös pilkkomattomana. Pilkotussa proteiinissa on 5' päässä 4 eri aminohappoa ja pilkkomattomassa 7 eri aminohappoa. RxRe:tä koodataan pilkotun proteiinin ensimmäisestä eksonista. Koska kummankaan muodon promoottorissa ei ole TATA-boksia, Sp1 on osoittautunut tärkeäksi transkriptiofaktoriksi. Sp1 on yleinen transkriptiofaktori proteiineille, joiden promoottorista puuttuu TATA-boksi. Koska Tax aktivoi viruksen genomien transkriptiota muodostamalla kompleksin CREB ja p300/CBP:n kanssa. Tax-response elementti (TRE) motiivi U3 alueella toimii sense- ja antisense geenitranskription voimistajana, vaikkakin sense-transkriptio on huomattavasti voimakkaampaa ja merkittävämpää viruksen lisääntymisen kannalta (Matsuoka & Green 2009).

2.3. Välittyminen ja invaasio

HTLV-1 on endeeminen virus, eli sitä esiintyy alueittain maailmassa. Virus leviää ruumiinnesteiden välityksellä, eli infektion voi saada veren, äidinmaidon tai siemennesteen kautta (Pique *et al.* 2012). Pääasialliset tapahtumat, joiden kautta virus leviää ovat siis äidin antama rintaruokinta, seksuaalinen kanssakäyminen, verensiirto ja suonensisäisten huumausaineiden käyttäminen. Lisäksi on raportoitu tapauksia, joissa virus on siirtynyt muulla tavoin toiselta ihmiseltä, kädelliseltä tai muulta eläimeltä ihmiselle (Kazanji *et al.* 2015).

Viruksen infektiokyvystä ja tavasta on kahdenlaista tietoa. Yleinen käsitys on, että HTLV-1-viruksen tapa siirtyä isäntäsoluun eroaa muista retrovirsuksista, jotka tuottavat soluttomia viruspartikkeleita, jotka siirtyvät kohteeseensa solunulkoisen nesteen kautta. Nämä muut virukset sitten sitoutuvat kohdesoluun ja infektoivat sen. HTLV-1 itsessään saattaa olla huonosti infektoiva virus, joten tehokkaaseen leviämiseen se vaatii infektoituneen solun, joka pääsee suoraan kontaktiin toisen solun kanssa. Tutkimuksissa havaittiin, että suuri osa kokeisiin osallistuneista yksilöistä saivat infektion, jos siirrettävässä veressä oli soluja, eli valko- ja punasoluja sekä verihiutaleita, mutta vain veriplasmaa saaneet henkilöt eivät saaneet infektiota. Uudemmat tutkimukset ovat kumminkin todistaneet, että virus voi välittyä myös ilman, että se esiintyy solussa. Dendriittisolut saavat infektion, jos ne altistetaan soluvapaalle virukselle ja ne myös välittävät viruksen nopeasti T-soluille.

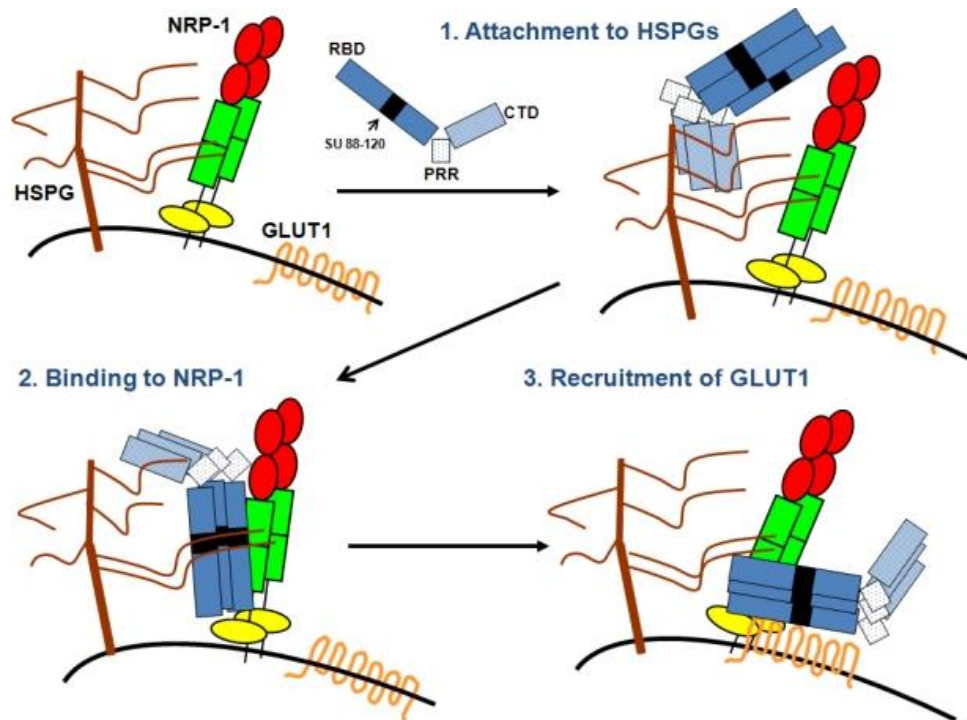
Solukontaktissa tapahtuvaa viruksen välittymistä tapahtuu myös T-solujen välillä. Infektioaste on kumminkin huomattavasti pienempi kuin silloin, jos virus on jo solussa. Tämä infektoituneen solun aiheuttama viruksen leviäminen onkin siis pääasiallinen väylä viruksen leviämisessä ihmisessä (Pique & Jones 2012).

HTLV-1 viruksen kohdesoluja ovat pääasiassa CD4-proteiinia pinnallaan ekspressoivat solut, joita ovat tyypin 1 ja 2 auttaja-T- ja regulatoriset T-solut (Barros *et al.* 2013). T-solut ovat tärkeä osa ihmisen immuunisysteemiä, sillä ne taistelevat patogeenejä vastaan ja estävät tautia puhkeamasta. Ne vapauttavat sytokiineja, eli tulehduksen välittäjäaineita, mikä johtaa vasta-aineiden tuottoon. Auttaja-T-solujen pinnalla ekspressoitava CD4-proteiini sitoutuu luokan II major histocompatibility complex (MHC) -proteiineihin, joiden tehtävä on tunnistaa vieraat molekyylit elimistössä. Tämä aktivoi auttaja-T-soluja (The Editors of Encyclopaedia Britannica 2020). Auttaja-T-solujen tehtävä on aktivoida muita lymfosyyttejä tekemään esimerkiksi vasta-aineita tai fagosytoimaan taudinaiheuttajan. Regulatoriset T-solut säätelevät muiden lymfosyyttien toimintaa vaimentamalla auttaja- ja sytotoksisten T-solujen toimintaa, jotta ne eivät hyökkäisi elimistön omia soluja vastaan tai infektiosta aiheutunut tulehdustila ei kasvaisi liian suureksi (Solunetti). Regulatorisien T-solujen toimintaa säätelee transkriptiofaktori Forkhead box P3 (Foxp3), joka on näiden solujen markkeriproteiini HTLV-1-infektiossa (Barros *et al.* 2013.)

Muiden retrovirusten lailla HTLV-1 tunnistaa kapsidin pinnalla olevan proteiinsinsa avulla T-solujen pinnalta reseptorin, johon se sitoutuu. Viruksen infektiossa vuorovaikuttaa kolme eri proteiinia, joita ovat glukosikuljettaja (GLUT1), heparaanisulfaattiproteoglykaani (HSPG) ja VEGF-165 reseptor neuropilin-1 (NRP-1) -proteiini. Nämä muodostavat reseptorikompleksin, joka mahdollistaa viruksen tunkeutumisen soluun (Jones *et al.* 2011). Erään tutkimuksen mukaan GLUT-1-reseptori sitoutuu viruksen reseptorin D106- ja Y114-osiin, sillä näillä on suuri affiniteetti reseptoriproteiiniin (Barros *et al.* 2013). VEGF (vascular endothelial growth factor) ja semaproteiinien koreseptoreihin kuuluva neuropilin-1:n havaittiin olevan myös tarpeellinen komponentti viruksen pääsyssä soluun, sillä viruksen pintaproteiinit sitoutuvat siihen. Samalla havaittiin, että NRP-1 muodostaa vakaan kolmiosisaisen kompleksin GLUT-1-reseptorin kanssa, kun ne koekspressoituvat solussa. Endogeenisesti eli solun sisällä reseptorit voivat yhdessä sijoittua infektoituneiden ja infektoitumattomien solujen liitoskohtiin, mistä voi päätellä, että reseptorikompleksilla on rooli viruksen välittymisessä T-solujen kesken (Ghez *et al.* 2006). Kolmas viruksen vaatima komponentti infektiossa ovat joukko hepariinisulfaattiproteoglykaaneja. Tutkimuksissa havaittiin tämä reseptori ensimmäisenä, koska solut, jotka eivät ekspressoineet HSPG:ta säilyivät infektoitumattomina.

HTLV-1:n pintaproteiinien C-terminaalisen domeenin aminohapot (215-313) osallistuvat sitoutumisessa HSPG-partikkeleihin (Jones *et al.* 2011).

Jotta virus voi sitoutua ja tunkeutua soluun, on näiden kolmen reseptorin muodostettava kompleksi. Viruksen pintaproteiini koostuu kolmesta yksiköstä: reseptoria sitovasta domeenista, proliinirikkaasta domeenista ja C-terminaalisesta domeenista. Kuten edellä todettiin, GLUT-1 ja NRP-1 voivat muodostaa kompleksin HTLV-1-viruksen pintaproteiinien ollessa läsnä ja myös kolokalisoitua yhdessä solun sisällä. Ennen viruksen tutkimista, HSPG:n ja NRP-1:n on tiedetty vuorovaikuttavan keskenään ja toimivan pro-angiogeenisen faktorin VEGF-165:n koreseptorina. On osoitettu, että HTLV-1 toimii samalla lailla kuin VEGF-165 ja sitoutuu heparaanisulfaatti (HS)-sidoksella samaan NRP-1-domeeniin, jonka aminohappojen 90-94 motiivi sitoo pintaproteiinia. Malli viruksen tunkeutumiselle soluun on seuraavanlainen: (1) Viruksen pinnan subuniitti (SU) vuorovaikuttaa HSPG-partikkelien kanssa C-terminaalisella domeenillaan, mikä kiinnittää viruksen T-solun pintaan. (2) SU ja NRP-1 vuorovaikuttavat HSPG:den kanssa ja NRP-1:n b-domeeni sitoo SU. (3) Kun SU on muodostanut vakaan sidoksen HSPG:n ja NRP-1:n kanssa, se muuttaa konformaatiotaan solun pinnan suuntaan, mikä saa sen sitoutumaan GLUT-1-reseptoriin SU:n D106- ja Y114-alueesta, joka sijoittuu reseptoria sitovan domeenin keskialueelle (Jones *et al.* 2011). Monireseptorinen malli sisältää siis viruksen kiinnittymisen, sitoutumisen ja fuusion soluun. Reseptorit toimivat yhdessä siten, että SU:n vuorovaikutus solun pinnan HSPG-partikkelien kanssa saa nämä vuorovaikuttamaan NRP-1:n kanssa. Sitoutuminen tähän altistaa SU:n GLUT-1 reseptorin läheisyyteen konformaation muutoksen takia. Tästä aiheutuu viruksen fuusio solun sisälle (Jones *et al.* 2011). Invaasio on havainnollistettu kuvassa 2.



Kuva 2. Multireseptorinen malli HTLV-1 viruksen invaasiolle. Ensimmäisessä vaiheessa (1) Viruksen pintareseptori kiinnittyy heparaanisulfaattiproteoglykaaneihin. Toisessa vaiheessa HSPG ja viruksen pintareseptori vaikuttavat NRP-1:n kanssa, mikä saa reseptorin muuttamaan konformaatiotaan ja sitotumaan glukoosikuljettajaan (GLUT-1) ja (3) fuusioitumaan solukalvoon. Kuvan lähde: Jones, K. S., Lambert, S., Bouttier, M., Bénit, L., Ruscetti, F. W., Hermine, O., & Pique, C. (2011). Molecular aspects of HTLV-1 entry: functional domains of the HTLV-1 surface subunit (SU) and their relationships to the entry receptors. *Viruses*, 3(6), 794–810.

2.4. Patogeneesi

HTLV-1 viruksen koodaamat rakenneproteiinit Gag, Pro, Pol ja Env osallistuvat uusien virusten muodostumiseen solussa ja säätelyproteiinit Tax ja HBZ säätelevät viruksen geeniekspressiota. Molempien Tax:n ja HBZ:n on osoitettu olevan suuressa roolissa tuumorigeneesissä aikuisen T-soluleukemian, ATL:n kehityksessä. Vaikka viruksen aiheuttamien patogeenisten mekanismien tutkimisessa on tehty suuria läpimurtoja, lisää tietoa tarvitaan geenituotteiden toiminnasta, vuorovaikutuksista niiden välillä sekä niiden vaikutuksista epigeneettisiin muutoksiin (Zhang *et al.* 2017).

Tax-proteiinilla on suuri rooli ATL:n tuumorigeneesissä, koska kuten edellä todettiin, se pystyy vaikuttamaan useisiin solun proteiineihin, jotka osallistuvat solusyklin kulkuun, transkriptioon ja solusignaaloinnin säätelyyn CREB-sitovan alueensa ansiosta (Zhang *et al.* 2017). Kompleksinmuodostuksen avulla se myös vuorovaikuttaa CREB-, CBP/p300- ja p300/CBP-assosioituneen faktorin P/CAF-proteiinien kanssa, mikä aktivoi viruksen geenien transkriptiota (Johnson

et al. 2001). Tax myös kontrolloi solun signalointireittejä ja etenkin NF- κ B-signalointireitin (*I κ B kinase (IKK)/NF- κ B signaling pathway*) on todistettu olevan avainasemassa viruksen infektoimien T-solujen selviytymisessä ja kehittämisessä syöpäsoluiksi (Harhaj & Giam 2018). Lisäksi Tax kontrolloi useita luontaisen/synnynnäisen immunitetin signalointireittejä, kuten RIG-I/MDA5-riippuvaista, TLR-riippumatonta, TRIF-riippuvaista TLR-reaktiota sekä cGAS-STING-reaktiota (Zhang *et al.* 2017). Lisäksi että se aktivoi solun omia geenejä, kuten IL-2, IL-2R α , GM-CSF ja PTHRP:ta. Tax pystyy myös estää tiettyjen geenien, kuten β -polymeraasin ekspressiota (Johnson *et al.* 2001).

Autofagian, eli solun proteiinien ja organellien hajottamisen, aktivointi ja DNA:n korjausmekanismeihin vaikuttaminen ovat tärkeitä seikkoja, jotka johtavat viruksen replikaation kiihtymiseen. Tax kerryttää autofagosomien määrää solussa estämällä niitä fuusioitumasta lysosomien kanssa. Autofagiaa tapahtuu Tax:n vaikutteisena aktivoimalla IKK:ta, eli I κ B-kinaasikompleksia, josta kerrotaan lisää I κ B-signaloinnin yhteydessä (Harhaj & Giam 2018). Tax inhiboi solun reaktiomekanismeja, jotka korjaavat DNA:ssa tapahtuneita vaurioita. Tämä genomisen epästabiilisuuksa johtaa ennalta-arvaamattomiin mutaatioihin genomissa, eli kaikki mutaatiot eivät ole suoraan Tax:n aiheuttamia. Korjaustapahtumat joihin Tax vaikuttaa ovat vaurioituneiden emästen, nukleotidien ja emäspariutumavirheiden korjaaminen, DNA:n katkoskohtien liittäminen sekä homologinen rekombinaatio. Nukleotidien korjausmekanismien vaimentaminen ja p53-tuumorisuppressorin inaktivointi on todettu tapahtuvan Tax:n toimesta. Kun Tax-proteiinia ekspressoituu solussa paljon, p53:n toiminta inaktivoituu solussa suuresta määrästä huolimatta, mikä johtaa nukleotidien korjauksen inhibioon. Tuumorisuppression inaktivaatio solussa johtaa solun hallitsemattomaan jakaantumiseen (Pise-Masison *et al.* 2000, Zhang *et al.* 2017).

NF- κ B signaloinnin krooninen aktivaatio solussa on avainasemassa ATL:n kehittämisessä. Tämän tutkiminen on edelleen työn alla, sillä Tax:n tarkkaa vaikutusta signaloinnin säätelyssä ei tiedetä. Useiden ATL-potilaiden soluissa Tax-proteiinia havaitaan hyvin pieniä määriä, mutta kaikissa näytteissä NF- κ B-signalointi on hyvin aktiivista. Tax:ia ei enää ekspressoida sairauden kehittyessä siitä syystä, että geenissä tapahtuu usein mutaatioita ja DNA hypermetyloituu 5'-LTR-alueella. Onkin esitetty, että sairauden kehityksen alussa Tax saa aikaan kroonisen NF- κ B-signaloinnin aikaan aiheuttamalla mutaatioita T/B-solujen reseptorin ja NF- κ B-signalointiin liittyvissä geeneissä ja aktivoimalla IKK-kompleksia. Tax siis saa aikaan muutoksia solussa edelleen inhibointinsakin jälkeen aiheuttamalla suoraan vaurioita DNA:han ja aiheuttamalla pysyvän NF- κ B-signaloinnin HTLV-1:n infektoituneissa soluissa. IKK, eli I κ B-kinaasikompleksi koostuu alayksiköistä IKK α ja IKK β sekä NEMO-säätelijästä. Kompleksi fosforyloi I κ B-proteiineja niiden hajottamista varten ja

kontrolloi geeniekspressiota IκB:n määrää säätelemällä. Tax vuorovaikuttaa viruksen infektion alussa NEMO:n kanssa, mikä johtaa IKK-kompleksin krooniseen aktivaatioon. Tämän vuoksi IKK- ja IκB-aktivaatio säilyy infektoituneissa soluissa, vaikka Tax ei enää vaikuttaisikaan. On myös esitetty, että jotkin muut signaalintimolekyylit voisivat johtaa IκB:n pysyvään aktivaatioon (Harhaj & Giam 2018).

HBZ on proteiini, jota ekspressoidaan kaikissa ATL-soluissa. Kuten aiemmin todettiin, HBZ-geeni voidaan transkriptoida kokonaisena tai kerran pilkottuna. Proteiinin toiminta on erilaista näissä kahdessa tapauksessa. HBZ:lla on todettu useita onkogeenisiä ominaisuuksia ja se toimii useissa reaktioissa Tax:n vastavaikuttajana. HBZ inhiboi viraalisen genomien transkriptiota vuorovaikuttamalla bZIP:n transkriptiofaktori CREB-2:n kanssa, mikä estää sitä sitoutumasta TxRE:en 5' LTR-alueella. Lisäksi HBZ häiritsee Tax:n sitoutumista p300/CBP-kompleksiin, mikä inhiboi transkriptiota. HBZ myös indusoi T-solujen lisääntymistä ja erilaistumista regulatorisiksi T-soluiksi. Tutkimuksissa on havaittu, että HBZ:n jatkuva ekspressointi solussa johtaa solujen lisääntymiseen, ja toisaalta ATL-solujen kasvu pysähtyy, kun proteiini inhiboidaan (Satou *et al.* 2006). Regulatoristen T-solujen avaingeeni erilaistumisessa on Foxp3, jonka ekspressiota havaitaan valtaosassa ATL-tapauksista. HBZ indusoi Foxp3:n ekspressiota TGF-β-signaaloinnin avulla muodostamalla HBZ/Smad3/p300-kompleksin. Tämä johtaa regulatoristen T-solujen määrän lisääntymiseen ja näin muiden T-solujen toiminnan hillitsemiseen. Infektoituneet solut väistävät tämän syövän kehittymisen estävän TGF-β-reaktiotien, mikä tekee regulatorisista T-soluista erittäin parhaiten selviytyviä ATL-soluja (Zhao 2016).

Yksi HBZ:n merkittävimmistä mekanismeista on sen kyky estää solua vanhenemasta ja estää apoptoosi, eli solukuolema. HBZ:n on todettu estävän proapoptoosisen Bim-proteiinin tuottoa sitoutumalla sen aktivaattori FoxO3a:n HTLV-1-viruksen infektoituneissa soluissa. Bim-proteiinia voidaan inhiboida myös epigeneettisten muutosten ja histonimodifikaatioiden toimesta, joiden takana on HBZ (Tanaka-Nakanishi *et al.* 2014). Kuten edellä on mainittu, Tax aktivoi NF-κB-signaalointia. Tämän hyperekspressio johtaa solun puolustusmekanismiin, mikä on senesenssi. Tässä HBZ toimii Tax:n vastavaikuttajana vähentämällä NF-κB-signaalointia hajottamalla p65:ta tai vähentämällä sen kykyä sitoutua DNA:han. NF-κB-signaaloinnin suppressio johtaa myös luontaisen immunitetin ja tulehdusvasteiden heikkenemiseen näitä vastaavien geenien hiljentämisen vuoksi (Zhao 2016). HBZ on myös yhdistetty mTOR:iin, (*mechanistic Target of Rapamycin*) aktivaatioon, mikä johtaa solun parantuneeseen kasvukykyyn. Signaalointia vahvistetaan solun kasvun pysäytyksen estämisellä ja inhiboimalla growth arrest and DNA damage-inducible -proteiinia (GADD34) (Mukai & Ohshima 2014).

Useiden epigeneettisten muutosten uskotaan olevan tärkeässä roolissa ATL:n etenemisessä. Tämä voidaan päätellä siitä, että useat ATL-solut eivät ekspressoivat viruksen omia geenejä, poikkeuksena tästä on HBZ. Merkittävänä pidettävä Tax on lähes aina hiljennetty, joten sen uskotaan aiheuttavan vaurioita DNA:han sairauden kehityksen alussa, josta seuraa genomien epästabiilisuutta ja myöhempiä muutoksia solun aineenvaihdunnassa. ATL:n geenimutaatioita ja epigenetiikkaa käsitellään tarkemmin luvuissa 3.4. ja 3.5.

3. Aikuisen T-soluleukemia

3.1. Taudinkuva

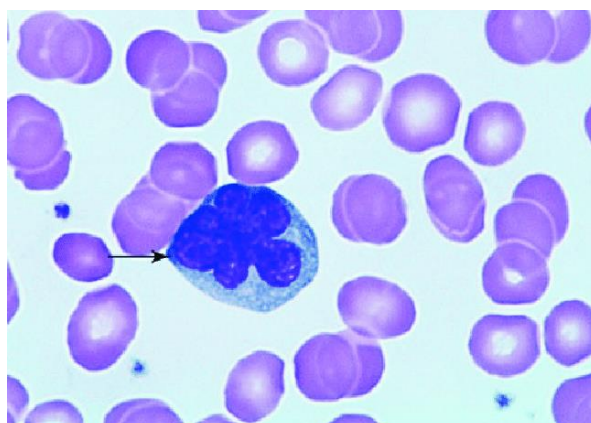
Aikuisen T-soluleukemia (ATL), myös T-soluleukemia/lymfooma (ATLL), on HTLV-1 viruksen aiheuttama syöpätyyppi, jota esiintyy kypsyneissä T-lymfosyyteissä. Sairaus on harvinainen, usein aggressiivinen syöpämuoto, joka luokitellaan non-Hodginsin lymfoomaksi, joka kattaa lymfoomamuodot, jotka eivät kohdistu Reed–Sternberg-soluihin. ATL poikkeaa muista leukemioista muun muassa siinä seikassa, että useimmissa muissa tyypeissä syöpäsolut kehittyvät nuorista soluista. Sairaudessa syöpäsoluiksi muuttuneet T-solut alkavat jakaantua hallitsemattomasti ja epänormaalit solut pääsevät verenkiertoon. Tämän takia leukemiaa kutsutaan verisyöväksi. Solut voivat myös muodostaa syöpäkasvaimia päästessään imusolmukkeisiin, jolloin kyseessä on lymfooma.

Koska HTLV-1 on endeeminen virus, myös ATL esiintyy runsaammin tietyillä alueilla maailmassa, pääasiassa Japanissa, Afrikassa, Karibialla, Australiassa ja Keski-Idässä (Proietti *et al.* 2005, Gessain & Cassar 2012). Sairastuneiden keski-ikä on keskimäärin 47,4 vuotta (Ramassamy *et al.* 2020), mutta eri maissa keski-ikä vaihtelee paljon alueittainkin, esimerkiksi Japanissa vaihtelu on 40 vuodesta 70 vuoteen. Tähän vaikuttaa muun muassa eliniänodote (Tsukasaki *et al.* 2020). HTLV-1 infektoi huomattavasti suuremman määrän ihmisiä kuin mitä ATL-tapauksia on. Vain noin 2-5 % viruksen kantajista sairastuu leukemiaan (Lima 2008) ja sairaus puhkeaa viivästyneesti vasta 40-60 vuoden päästä infektiosta (Oka *et al.* 2018). Riskitekijöitä on useita, mutta etenkin seuraavat tekijät vaikuttavat merkittävästi siihen, sairastuuko viruksen kantaja ATL:ään: infektio on saatu nuorena, korkea ikä, miessukupuoli, tupakointi, suvussa esiintynyt ATL ja sairaushistoriassa on tarttuvaa ihotulehdusta, henkilön verestä löytyy HTLV-1-vasta-aineita ja useita ihmisen leukosyyttiantigeenejä. Myös proviraalinen kuorma soluissa vaikuttaa, eli kuinka paljon virusta esiintyy elimistössä (*proviral load*) (Tsukasaki & Tobinai 2014). Vaikka endeemisillä alueilla ATL:ää esiintyy paljon, muualla maailmassa sairaus on hyvin harvinainen. Esimerkiksi vuosina

1993-2008 tehty tutkimus vertaili Japanin ja Yhdysvaltojen lukuja: Tutkimuksen aikana Japanissa diagnosoitiin 2055 ATL-tapausta vuosina 1993-2006, kun taas Yhdysvalloissa luku oli vain 140 vuosina 1993-2008 (Chihara *et al.* 2012).

3.2. Diagnostiikka ja oireet

ATL:ssä on useita diagnostisia kriteerejä, joiden avulla sairaus voidaan todeta ja myös jakaa alatyyppeihin. Potilaalta mitataan verikokeessa vasta-aineet HTLV-1 virukselle, lymfosyytit, epänormaalit T-lymfosyytit, kukkasolut T-solumarkkerilla sekä laktaattidehydrogenaasi (LDH)- ja kalsiumtasot. Diagnoosissa otetaan myös huomioon epänormaaliuudet muun muassa imusolmukkeissa, ihossa, keuhkoissa, maksassa ja luissa (Shimoyama *et al.* 1991). ATL-potilaiden pahanlaatuisia soluja kutsutaan ”kukkasoluiksi” (*flower cells*) niiden ulkonäön takia. Solujen tuma on jakaantunut ikään kuin kukan terälehdiksi, kromatiini on hyvin kondensoitunut ja homogeeninen, nukleolia ei ole tai se on hyvin pieni. Lisäksi solulima on agranulaarinen tai basofiilinen (Goncalves *et al.* 2010). Kuvassa 3 näytetään esimerkki ATL-solusta. ATL jaetaan neljään alatyyppiin: akuuttiin, lymfoomaan, krooniseen ja kytevään (*smouldering*) tyyppiin. Jako tehdään pääasiassa laktaattidehydrogenaasi- (LDH) ja kalsiumtasojen sekä kohde-elimien perusteella (Tsukasaki & Tobinai 2014). Esimerkiksi lymfoomasta kärsivällä imusolmukkeet ovat laajentuneet ja verestä ei löydy juurikaan epänormaaleja T-lymfosyyttejä, toisin kuin leukemiassa, jossa veressä on 10 % tai enemmän ATL-soluja (Shimamoto *et al.* 1990). Jako eri tyyppisiin on tärkeää paitsi leukemogeneesin ennustamisen, myös hoitostrategian suunnittelun kannalta. Silti eri alatyypit esiintyvät spektrinä ja joissakin tapauksissa oireet esiintyvät päällekkäin kahden eri tautityypin välillä.

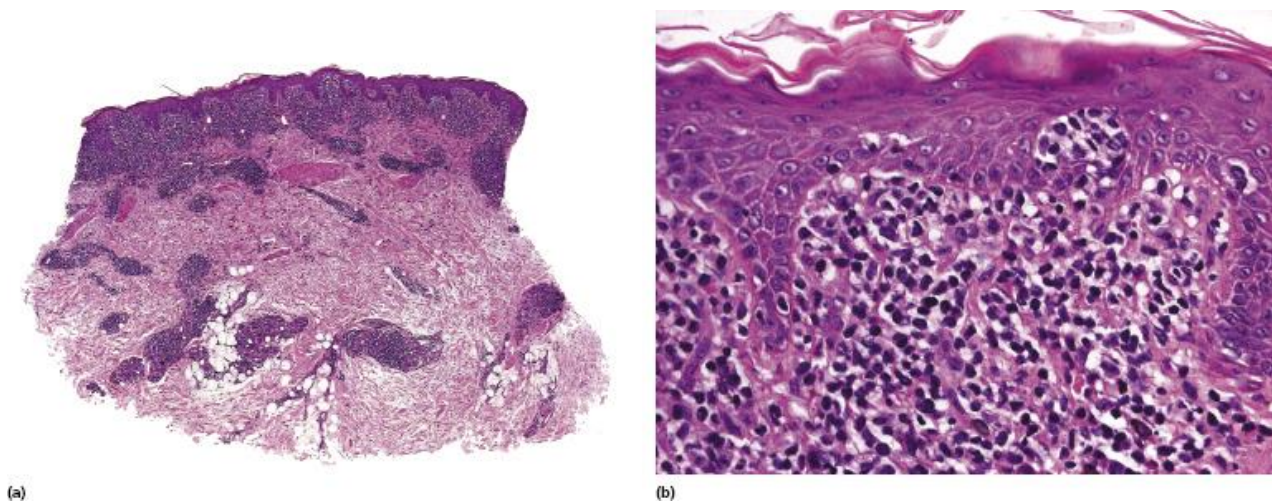


Kuva 3. HTLV-1 viruksen infektoima T-lymfosyytti, kukkasolu. Solu saa kukkamaisen ulkonäkönsä epäsäännöllisesti jakaantuneesta tumasta. Kuvan lähde: An Enabling Act - Scientific Figure on ResearchGate.

[Viitattu 20.10.2020] Saatavissa: https://www.researchgate.net/figure/Peripheral-blood-smear-the-arrow-is-pointing-to-a-flower-cell-which-is-a-lymphocyte_fig1_273153232

Oireet eri alatyypeissä eroavat toisistaan huomattavasti. Akuutti tyyppi on näistä kaikkein aggressiivisin sairauden edetessä nopeasti, mikä johtaa usein kuolemaan hyvin lyhyessä ajassa. Se on myös kaikkein yleisin muoto. ATL-tapauksista jopa 55-75 % sairastaa akuuttia muotoa, millä on merkittävä vaikutus kuolleisuuteen (Shimoyama *et al.* 1991). Sairastuneella on monenlaisia oireita: vatsakipua, ripulia, askiittia, ihon ja silmien keltaisuutta, tajuttomuutta, hengenahdistusta, veden kertymistä keuhkoissa (pleuraeffuusio), yskää, poikkeamia sisäelimeissä röntgenkuvissa, hyperkalsemiaa ja alttiutta infektioille (Tsukasaki & Tobinai 2012). ATL-potilas kärsiikin usein jostakin muusta infektiotaudista heikentyneen immuunipuolustuksen takia (Ramos 2017). Akuutti tyyppi diagnosoidaan, jos verenkierrossa on huomattavan suuri määrä valkosoluja, LDH-arvot ovat kaksi kertaa korkeammat kuin viitearvot, potilaalla on hyperkalsemiaa ja syövän havaitaan edenneen muualle elimistöön kuten keskushermostoon, luuhun tai ruuansulatuselimistöön (Lunning & Horwitz 2017). Potilaalla havaitaan usein myös iholeesioita, ihosolmukkeiden, maksan ja pernan laajentumia. Kuvassa 4b on ihonäyte, jossa havinnollistetaan ATL-solujen invaasiota ihokudokseen. Diagnoosi akuuttiin tyyppiin tehdään usein myös sulkemalla muut alatyypit pois (Tsukasaki 2020).

Lymfooma on hyvin aggressiivinen akuutin muodon tapaan ja eliniänodote on varsin lyhyt diagnoosin saamisesta. Se on ainoa muoto, jossa voidaan imusolmukkeesta otetun koepalan avulla tehdä diagnoosi (Shimoyama *et al.* 1991). Kuvassa 4a näytetään poikkileikkaus imusolmukkeesta, johon ATL-soluja. Imusolmukkeiden laajeneminen on myös merkittävää ja laajentumat ovat suurempia kuin akuutissa muodossa. Tässä tapauksessa verenkierrosta ei myöskään löydy pahanlaatuisia soluja. LDH- ja kalsiumtasot ovat usein koholla ja luissa voidaan tehdä havaintoja epänormaaleista soluista (Tsukasaki *et al.* 2020).



Kuva 4. Histologisia näytteitä syöpäkudoksesta (a) poikkileikkaus imusolmukkeesta, jossa ATL-solut ilmenevät nauhamaisena kudoksena (b) poikkileikkaus ihon epidermiksestä, jossa ATL-solut tunkeutuvat terveeseen kudokseen (Courtesy of Dr. Tatsushi Shiomi, Okayama, Japan). Kuvan lähde: Cutaneous Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (2016) Plastic Surgery Key [Viitattu 20.10.2020] Saatavissa: <https://plasticsurgerykey.com/9-cutaneous-adult-t-cell-leukemialymphoma/>

Krooninen ATL esiintyy sekä aggressiivisessa että lievässä muodossa (Tsukasaki *et al.* 2020). Oireet ovat epämääräisiä, eikä esimerkiksi tarkkoja havaintoja syöpäkasvaimista voi tehdä. Iholeesiot ovat hallitsevin oire ja potilailla onkin usein näppylöitä, läiskiä, punoitusta tai jopa kasvaimia ihokudoksessa (Goncalves *et al.* 2010). Myös maksa, perna ja ihosolmukkeet voivat olla laajentuneet (Tsukasaki *et al.* 2020). Diagnoosi voidaan tehdä, jos kokonaislymfosyytit ovat koholla ja LDH ylittää viitearvot kaksinkertaisesti (Lunning & Horwitz 2017). Kytevä (*smoldering*) ATL on yhtä vaikeasti luokiteltava kuin krooninen ATL. Yhteistä näille on se, että kalsiumtasot ovat viitearvoissa, mutta LDH on koholla (Tsukasaki *et al.* 2020). Kytevässä muodossa esiintyy samanlaisia ihomuutoksia ja siinä voi kroonisen muodon tapaan esiintyä kasvaimia keuhkoissa. Kyteväksi muodoksi ATL voidaan varmistaa verikokeella: veren kokonaislymfosyytit ovat normaaleissa rajoissa, eikä pahanlaatuisten solujen määrä ylitä 5 % kokonaismäärästä (Lunning & Horwitz 2017). Nämä kaksi muotoa ovat usein paremmin hoidettavissa ja eliniänodote on huomattavasti pidempi.

3.3. Immunohistokemia

HTLV-1-virus infektoi T-lymfosyyttejä, joiden eri pintaproteiineja kuvaillessa käytetään CD-luokitusta. CD (*cluster of differentiation*) luokittelu perustuu T-lymfosyyttien pinnalla ekspressoitaviin markkereihin, eli ne kuvaavat eri T-solutyyppejä. Diagnoosia tehdessä havainnoidaan CD3-, CD4-, CD7-, CD8- ja CD25-proteiineja, sillä ne ekspressoituvat eri tavoin T-solujen pinnalla kussakin ATL:n alatyypissä. Useimmissa tapauksissa ATL solut ekspressoivat CD3, CD4 ja CD25, mutta eivät CD7, eli ATL-solujen fenotyyppi on CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺ CD7⁻. Harvoin, 10-15 % tapauksista, havaitaan sekä CD4- että CD8-proteiineja ekspressoivia soluja, mikä on yhdistetty lyhyempään eliniänodotteeseen (Watanabe 2017). CD4-solut ovatkin pääasiallinen kohde HTLV-1-virukselle ja suurin osa ATL:n tutkimuksista kohdistuvat tähän solutyyppiin. Infektoituneissa soluissa huomataan interleukiinireseptorien muutoksia, mikä johtaa immuunipuolustuksen heikentymiseen.

Soluissa inhiboidaan CD127 sekä ekspressoidaan CD25 ja eritetään IL-2, mikä johtaa auto- ja parakriiniseen T-solujen lisääntymiseen (Kagdi *et al.* 2012). Interleukiini 2 on T-solujen erittämä sytokiini, jonka tuotto aktivoituu CD4- ja CD8-soluissa immuunipuolustuksen aktivoituessa virusinfektion seurauksena. IL-2 sitoutuu regulatoristen T-solujen ja muiden sytotoksisten T-solujen CD25-reseptoreihin (Boyman & Sprent 2012), mikä aiheuttaa immuunivasteen. CD25 ja Foxp3:ta ekspressoivilla regulatorisilla T-soluilla on parempi selviytymiskyky ja ne toimivat tehokkaina viruksen välittäjäsoluina. Ne hillitsevät sytotoksisten solujen toimintaa ja näin edesauttavat ATL-solujen jakaantumista. Tämän seurauksena HTLV-1-infektoimien regulatoristen T-solujen määrä lisääntyy ATL:ssä voimakkaasti (Boyman & Sprent 2012).

Uskotaan, että HTLV-1 viruksen lisääntyminen etenee kahdessa vaiheessa. Alussa Tax on vastuussa viruksen genomien replikaatiosta ja se ehtii tuottaa noin 500-5000 infektoitunutta ATL-solua ennen immuunivasteen kehittymistä. Kun CD8-solujen interleukiini-2-välitteinen sytotoksisten ja regulatoristen T-solujen jakaantuminen kiihtyy, sytotoksiset T-solut alkavat tuhoamaan ATL-soluja, jotka ekspressoivat Tax-proteiinia. Sairauden eteneminen hidastuu, mutta viruksen infektoimat solut jatkavat jakautumista HBZ:n toimesta. Kuten havainnot osoittavat, useimmat ATL-solut ekspressoivat vain HBZ-proteiinia ja Tax on vaimennettu.

Kaikille muodoille on yhteistä myös CCR4:n ja CD26:n ekspressointi. Infektoituneet solut ekspressoivat CCR4-proteiinia, mikä on CCR7:n tavoin kemokiinireseptori ja se vastaa kypsyneiden T-solujen kuljetuksesta iho- ja imusolmukkeisiin. CCR7:n ja CCR4:n ekspressointi, sekä ligandi MDC:n välittäminen edesauttaa viruksen leviämistä ja johtaa usein iho ja imusolmukemuutoksiin

sairauden edetessä. CD7 on immunoglobuliineihin kuuluva reseptori, joka vastaa T-solujen apoptoosin säätelystä. Tämän proteiinin ekspressio on usein menetetty ATL:ssä, mikä johtaa aggressiivisemmän syöpämuodon kehittymiseen. CD26:n, dipeptidyylipeptidaasi-4:n ekspressio menetetään myös monissa tapauksissa epigeneettisten muutosten seurauksena. Tämä aiheuttaa T-solujen aktivaation laskun ja näin immuunipuolustuksen heikentymisen (Kagdi *et al.* 2012).

3.4. Geenimutaatiot

ATL ei noudata tiettyä karyotyyppiä, sillä Tax-proteiinin aiheuttamat geenimutaatiot ovat tapauksissa erilaisia. Soluissa kumminkin havaitaan runsaasti kromosomaalisia poikkeamia, joista muutamia voidaan yhdistää suoraan ATL:ään. Mutaatioiden perusteella voidaan myös ennustaa sairauden etenemiseen ja vakavuuteen liittyviä tekijöitä. Aggressiivisissa ATL-tyypeissä esiintyy yleensä enemmän nukleotidien muutoksia ja kromosomaalista epätasapainoa, kuin lievemmissä tyypeissä. Yleisimmät mutaatiot ATL-soluissa ovat nukleotidien lisäykset geeneissä 14q, 7q ja 3p sekä deleetiot geeneissä 6q ja 13q (Watanabe 2017). Lisäksi mutaatioita p53- ja p15^{INK4B}/p16^{INK4A}-tuumorisuppressoreissa havaitaan noin puolessa tapauksista (Tsukasaki *et al.* 2009). Muita sykliiniriippuvaisia kinaasi-inhibiittoreita, joihin kohdistuu harvemmin mutaatioita ovat p18^{INK4C}, p19^{INK4D}, p21^{WAF1}, p27^{KIP1} ja p57^{KIP2} sekä retinoblastooma (Rb) (Watanabe 2017). Koska nämä kaikki osallistuvat solusyklin G1/S vaiheen siirtymässä, muutokset häiriinnyttävät solunjakaantumisprosessia. Tiivistetty katsaus ATL:n geenimutaatioista on esitetty kuvassa 5.

Aggressiivisissa akuutissa ja lymfoomassa havaitaan mutaatioita proteiineissa p15 20 % ja p16 28-67 %, kun lievempien ATL-tyyppien, kroonisen ja akuutin, kohdalla niitä oli huomattavasti vähemmän: p15 0-13 % ja p16 5-26 %. Deleetiot näissä geeneissä ovat mutaatioita huomattavasti yleisempiä, kun taas p53 on mutatoitunut 10-50 %:ssa aggressiivisissa ATL-tapauksissa. Nämä muutokset proteiineissa p15, p16 ja p53 siis korreloivat suoraan huonoon ennusteeseen. Aggressiivisille muodoille ovat myös tyypillisiä mutaatiot IRF4-geenissä ja useiden DNA:n kopiokohtien muutokset (*many copy number alterations (CNAs)*), kuten PD-L1 lisäykset ja CDKN2A-geenin deleetiot. Kytevässä ja kroonisessa tyypissä STAT3-geenin mutaatiot ovat yleisempiä, mutta muutoksia IRF4-, PD-L1- ja CDKN2A-geeneissä esiintyy näissäkin tyypeissä. Tällöin ennuste on huomattavasti huonompi, kuin silloin jos geenit esiintyvät normaalina. Etenkin PD-L1:n (programmed-death ligand-1) lisäykset on yhdistetty nopeasti kuolemaan johtaviin ATL-tapauksiin (Kataoka *et al.* 2018). PD-L1 esiintyy HTLV-1:n infektoimien solujen pinnalla estäen sytotoksisia lymfosyyttejä hyökkäämästä syöpäsoluun ja näin väistää immuunipuolustuksen (Thunnissen *et al.* 2019).

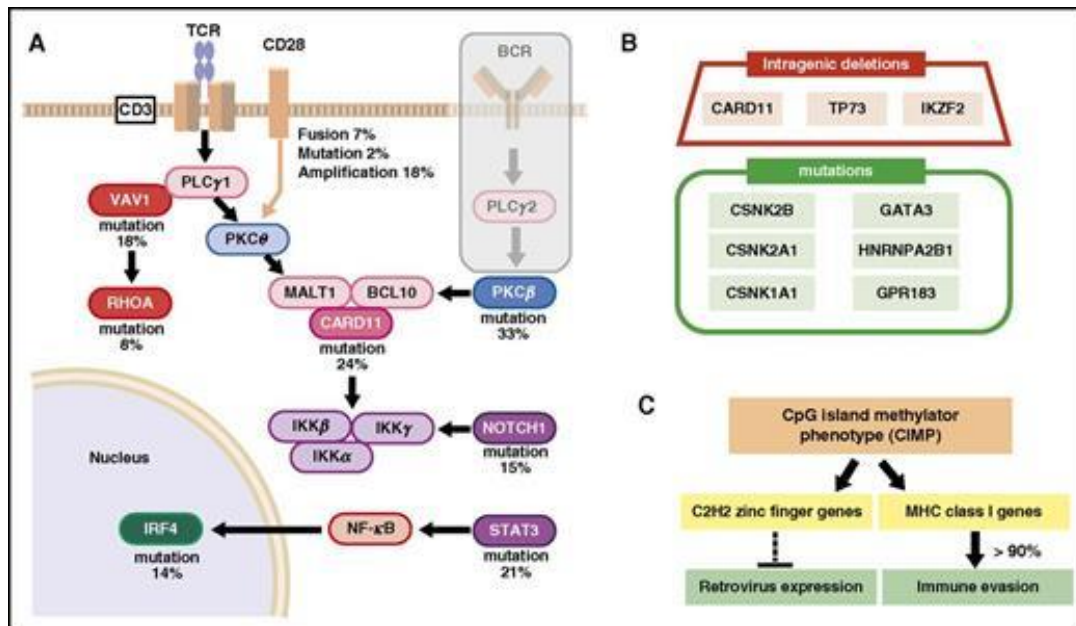
Vuosien 1984 ja 2017 välillä tehdyssä tutkimuksessa tarkasteltiin geenejä, jotka korreloivat eliniänennusteeseen. Tutkimukseen osallistui 463 potilasta, joilla oli todettu ATL ja alatyyppejä esiintyi vaihtelevasti. Myös alatyypin ja eri geenien korrelaatioita elinajanodotteeseen tarkasteltiin. Alatyypistä riippumattomia tekijöitä, jotka ennustivat huonoa elinajanodotetta olivat korkea ikä (>70 vuotta), PRKCB-mutaatio ja lisäykset PD-L1-geenissä. Aggressiivisissa tyypeissä PRKCB-geenissä tapahtuneet mutaatiot ja PD-L1:n lisäykset yhdessä korkean riskin JCOG-PI:n (korkea kalsiumtaso/huono yleiskunto) kanssa korreloivat vahvasti lyhyeen elinikään. Lievemmissä tyypeissä PRKCB:n merkitys oli pienempi, mutta mitä enemmän somaattisia mutaatioita ja DNA:n kopiokohtien muutoksia oli, sitä huonompi ennuste potilaalla oli. Sama vaikutus oli IRF4-mutaatioilla ja CDKN2A-deleetioilla (Kataoka *et al.* 2018).

Toisessa 81 potilasta käsittelevässä tutkimuksessa, jossa sekvensoitiin koko eksomi, löydettiin 50 geeniä, jotka olivat useasti ja pahanlaatuisesti mutatoituneet. 13 näistä mutaatioista havaittiin yli 10 prosentilla tutkittavista. Nämä liittyivät T-solujen reseptorin (TCR)–NF-κB-signalointiin, T-solujen kuljetukseen tai muuhun T-solujen liittyvään signalointiin sekä immuunipuolustuksen kontrollointiin. Yleisimmät mutaatiot löytyivät seuraavista geeneistä: PLCG1, PRKCB, CARD11, VAV1, IRF4, CCR4 ja CCR7. Tarkemmin aminohappoja tarkastellessa CCR4:n Tyr331- ja CCR7:n Trp355-aminohapoissa oli useita gain of function –mutaatioita (Kataoka *et al.* 2015).

Samassa tutkimuksessa tarkasteltiin SNP (single nucleotide polymorphism), eli yksittäisten nukleotidien muutoksia 426:ssa ATL-potilaassa. Tuloksena havaittiin 50 kopion vähentymistä ja 26 kopion lisääntymistä. Keskimääräinen rakenteellinen variaatio, eli isomman kuin 1 kb muutos DNA:ssa, potilaan kohdalla oli 60. Tutkimus paljasti useita aktivoivia mutaatioita (PLCG1, PRKCB, CARD11, VAV1, IRF4, FYN, CCR4 and CCR7) ja fuusioituneita geenejä (CTLA4-CD28 and ICOS-CD28). Intrageenisisiä, eli introneissa tapahtuneita mutaatioita, havaittiin geeneissä GATA3, HNRNPA2B1, GPR183, CSNK2A1, CSNK2B ja CSNK1A1 ja deleetioita IKZF2, CARD11 and TP73. Deleetiot olivat usein tapahtuneet kromosomien hauraammissa kohdissa, kuten 14q31.1 (NRXN3), 7q31.1 (IMMP2L), 1p21.3 (DPYD) ja 3p14.2 (FHIT).

Tulokset paljastivat lisäksi MHC-I-proteiiniin, kuolemanreseptoreihin, soluja liittäviin proteiineihin ja tarkastuspisteproteiineihin liittyviä hypermetylaatioita, deleetioita ja mutaatioita. Jopa 27 % ATL-soluissa oli rakenteellisia muutoksia PD-L1-geenissä, mikä johti toimimattoman proteiinin tuottamiseen (Kataoka *et al.* 2015). Tutkimus vahvisti entisestään käsitystä ATL:stä sairautena, jossa tapahtuu runsaasti sattumanvaraisia mutaatioita epästabiilin genomin seurauksena. Samassa tutkimuksessa pääteltiin, että p16- ja p53-proteiinin inaktivaatio, TCR- ja NF-κB-signalointiin

liittyvät sekä muut akkumuloituvat mutaatiot johtavat T-solujen muuttumiseen syöpäsoluiksi (Kataoka *et al.* 2015).



Kuva 5. ATL-solujen geneettisten muutosten kuvaannollistus. (A) TCR ja NF-κB-signaloinnissa kertyy mutaatioita. (B) Pienempiä mutaatioita ja intrageenisia deleetioita muissa geneeissä. (C) CpG island methylator phenotype (CIMP), CSNK2B, kaseiini kinaasi II β-alayksikön; CSNK2A1, kaseiini kinaasi 2 α 1; CSNK1A1, kaseiini kinaasi 1 α 1; HNRNPA2B1, heterogeenisen tuma-ribonukleoproteiinien A2/B1; IKZF2, sinkkisormiproteiini Helioksen mahdolliset vaikutukset. Kuvan lähde: Toshiki Watanabe (2017); Adult T-cell leukemia: molecular basis for clonal expansion and transformation of HTLV-1-infected T cells. *Blood*; 129 (9): 1071–1081.

Myös aktiinisäikeiden organisaatioon ja solun muotoon vaikuttavassa RHOA-geenissä on löydetty vaihtelevanlaatuksia mutaatioita, pääosin ne kumminkin sijoittuvat GTP:tä sitovaan alueeseen. Koska mutaatiot olivat varsin erilaisia, niillä oli sekä positiivisia, että negatiivisia vaikutuksia ATL:n leukemogeneesiin. Muita usein mutatoituneita genejä ovat TET2 ja MLL3, joita havaittiin jopa kolmasosalla ATL:stä kärsivillä. Näiden transkriptiota säätelevien geenien inaktivaatiolla on esitetty olevan merkittäviä vaikutuksia sairauden etenemisessä. 20-30 % ATL-tapauksista on myös raportoitu aktivoivia mutaatioita solujen kasvua kiihdyttävissä ja tuumorigeneesia aiheuttavissa Notch-1 signaloinnissa, Notch-1 PEST-domeenissa, F-boksissa ja 7 kappaletta (FBXW7)/hCDC4 sisältävässä WD-toistojaksossa (Kataoka *et al.* 2015).

3.5. Epigeneettiset muutokset

ATL:ssä ilmenee useita epigeneettisiä muutoksia, eli DNA:han kohdistuu tekijöitä, jotka vaikuttavat geeniekspressioon. Epigeneettisten muutosten uskotaan olevan peräisin Tax-proteiinin aiheuttamista muutoksista DNA:ssa. Sairauden alkuvaiheessa HTLV-1 viruksen tuottamat proteiinit ovat pääroolissa, mutta Tax-proteiinin aiheuttamat vauriot genomissa, geenimutaatiot ja epigeneettiset muutokset, edesauttavat sairauden etenemistä vielä Tax:n vaimentamisenkin jälkeen. Merkittävimpinä epigeneettisinä muutoksina ATL:ssä pidetään DNA:n metylaation ja histonimodifikaatioiden epänormaalisuuksia, sekä transkriptiotekijöiden ja mikroRNA:n muutoksia. Muutosten pahanlaatuisuus on vaihtelevaa, sillä mekanismit niiden taustalla ovat moninaiset.

Tax-proteiinilla on rooli solusyklin säätelyssä. Taxin vielä ekspressotuesssa solussa se voi inhiboida useita solun kasvua hillitseviä proteiineja, kuten CDKs, CDKN1A, CDKN1B ja CDKN2A joko transkription säätelyllä tai fyysisellä kontaktilla. Se voi myös sitoutua useiden geenien inhibiittoreihin, mikä estää niitä toimimasta ja geenin ekspressio aktivoituu (Yamagishi *et al.* 2018). Esimerkiksi NF- κ B voidaan aktivoida pysyvästi, jos sen negatiiviset säätelijät poistetaan tai inaktivoidaan. Tämän seurauksena on edelleen solun jakaantumisen ja transkription hallitsemattomuus ja poikkeava sytokiinituotanto. Sitoutumalla fyysisesti Tax voi myös inhiboida tuumorisupressorina toimivaa p16^{INK4A}-geeniä. Tax luo fyysisen kontaktin p16^{INK4A}-proteiiniin, jolloin se ei pysty luomaan p16^{INK4A}-CDK4-kompleksia, mikä aktivoi CDK4-kinaasin. Tämä johtaa solusyklin etenemiseen. Tax vaikuttaa useisiin muihin solusyklin G₁-S siirtymää aktivoivien geenien säätelijöihin solusykliä kiihdyttävästi. Näitä ovat esimerkiksi CREB, SRF ja transkriptionaalinen inhibiittori I κ B (Suzuki *et al.* 1996). Positiivisia säätelijöitä Tax saa toimimaan geeniä hyperekspressoivasti ja inhibiittoreihin se sitoutuu, jotta proteiinin toiminta estyy.

DNA:n metylaatio on yksi tavoista säädellä transkription aktiivisuutta. Metyyliryhmän lisääminen voi saada esimerkiksi inhibiittorin sitoutumaan tai estää transkriptiotekijöitä sitoutumasta säätelyalueelle (Moore *et al.* 2012). Tällöin geenin toiminta muuttuu, vaikka mutaatiota ei tapahtuisikaan. Kuten geneettisiä muutoksia käsittelevässä kappaleessa esitettiin useaan otteeseen, DNA:n metylaation aiheuttamat geenien luennan muutokset ovat hyvin yleisiä ATL:ssä. Promootoreissa tai niiden läheisyydessä sijaitsevat sytosiini-guaaniinirikkaat alueet toimivat useiden geenien transkription aktivaattoreina. CpG-alueiden (*island*) metylaatio johtaa geenin transkription hiljentämiseen (Kataoka *et al.* 2015). CpG-alueen DNA hypermetylaatiota CDKN2-lokuksessa, joka vastaa useiden tuumorisupressorien, kuten p14, p15 ja p16, koodaamisesta, esiintyy jopa puolella sairastuneista. Erityisen yleistä tämä on aggressiivisissa syöpämuodoissa, jossa hypermetylaatiota tapahtuu jopa 73 % tapauksista (Nosaka *et al.* 2000). Myös muista solusykliä säätelevistä lokuksista

on löydetty metyloituneita alueita, kuten HCAD-, SHP1-, DAPK-, CDK2A- ja CDK2B-geeneistä. Lisäksi geeneissä BMP6, APC ja CD26 on huomattu hypermetylaatiota (Watanabe et al. 2017). Eräässä seulontatutkimuksessa, joka tutki apoptoosiresistenssiä, löydettiin jopa 53 CpG-metyloitunutta geeniä (Yasunaga *et al.* 2004).

Laaja tutkimus, jossa tutkittiin ATL-näytteiden geenimutaatioita, tarkasteltiin myös CpG-alueiden metylaatioita. Tulos vahvisti käsitystä ATL:stä hypermetyloituneena sairautena. CpG island methylator phenotype (CIMP) määriteltiin noin 40 % tapauksista, joista valtaosalla esiintyi aggressiivinen ATL-tyyppi. Vahvaa metylaatiota havaittiin TET2, IDH2, DNMT3A, MHC-I ja C2H2 sinkkisormigeeneistä, joista viimeinen toimii retrovirusten suppressorina (Kataoka *et al.* 2015). Useiden geenien metylaatiosta ja ekspressiotasoista löytyy kuitenkin ristiriitaista tietoa, eikä varmoja johtopäätöksiä metylaatioiden kohdegeeneistä voida tehdä. Myös perimmäinen syy metylaatiomekanismien ja -syiden takana on edelleen selvittämättä.

Kromatiinin rakenteen sääteleminen on yksi tärkeimmistä seikoista, jolla geeniekspressiota voidaan kontrolloida. Kromatiinia säädellään solussa dynaamisesti, mikä vaikuttaa lokuksen aktiivisuuteen. Ulkoisen viestin perusteella kromatiini voidaan joko avata eukromatiiniksi, jolloin transkriptiofaktorit voivat sitoutua siihen ja aktivoida transkription tai sitten se voidaan pakata kompaktiin muotoon heterokromatiiniksi, jolloin locus on hiljennetty. Kromatiinin kondensoitumista säädellään histoniproteiinien avulla, jotka kiertävät DNA:ta ympärilleen ja edelleen muodostavat nukleosomeja, jotka muodostavat kromatiinin. Histonien modifikaation avulla kromatiinia saadaan kondensoitua heterokromatiiniksi. Histonien erilaisia modifikaatioita ovat pääasiassa histonien metylaatio, asetylaatio, fosforylaatio. Muita harvinaisempia modifikaatioita ovat esimerkiksi ubikinaatio ja ADP ribosylaatio.

Histonien modifikaatioita on tutkittu geenien metylaatioihin verrattuna varsin vähän teknisten vaikeuksien takia, mutta viime aikoina on saatu tietoa myös useista poikkeavista modifikaatioista. Apoptoosia indusoivaa ja NF- κ B-proteiinia inhiboivaa histoni deasetylaasi inhibiittoreita (HDAC) on havaittu HTLV-1 viruksen infektoimissa soluissa, mutta HDAC:n mekanismeja ja merkittävyyttä sairaudessa ei vielä tiedetä tutkimusten keskeneräisyyden vuoksi (Nishioka *et al.* 2008, Hasegawa *et al.* 2011).

H3K27, metyloituneena H3K27me3, geenin trimetylaatiota pidetään useiden eri syöpien markkerina geeniekspression vaimentamiselle eukromatiinissa. Kun geeni trimetyloidaan, sillä on suuri vaikutus syöpäsolujen selviytymiseen, lisääntymiseen, erikoistuneiden solujen palauttamisessa yksinkertaisempaan solutyyppiin (*dedifferentiation*), invaasioon ja metastaasiin. Polycomp group

(PcG) -proteiinit pystyvät kontrolloimaan tuhansien solujen erilaistumiseen osallistuvien geenien toimintaa muodostamalla proteiini-komplekseja, jotka vaikuttavat geenien luentaan negatiivisesti. Näiden histonien modifikaatioihin vaikuttavien proteiinien kaksi pääkompleksia ovat polycomb repressive complex 1 (PRC1) ja PRC2. PRC1 stabiloi kromatiinia tunnistamalla H3K27 ja ubikinoimalla H2AK119. PRC2 taas metyloi H3K27-histonia voimistajien zeste 1 (EZH1) ja zeste 2 (EZH2) avulla (Watanabe 2017).

Epigeneettiset muutokset vahvistettiin tutkimuksessa, jossa havaittiin geeniekspression huomattavaa lisääntymistä PRC2-kompleksin voimistajien EZH1 ja EZH2 osalta, mikä muutti H3K27:n toiminnan täysin. Tämä havaittiin yli puolessa ATL-solunäytteistä. H3K27me3 metylaatiota tapahtuu runsaasti jo sairauden alkuvaiheessa, jonka vuoksi epigeneettiset muutokset voidaan havaita jo varhaisessa vaiheessa (Yamagishi *et al.* 2018). EZH1 ja EZH2 todennäköisesti toimivat toistensa vastavaikuttajina, tai ainakin tiiviissä vuorovaikutuksessa. EZH1 aktivoituu EZH2:n puuttuessa kompensoiden sen toimintoja. Kun nämä molemmat poistettiin siRNA:n avulla, metyloituneen H3K27:n määrä soluissa väheni ja merkittävästi hidasti ATL-solujen kasvua. Sama tutkimus tehtiin poistamalla vain EZH1 tai EZH2, mutta solujen kasvu ei juurikaan hidastunut. H3K27-histonin toiminta myös erosi selvästi muiden syöpätyyppien ja PcG-riippuvaisten solulinjojen saman histonin toiminnasta, millä saattaa olla osuutta ATL:n alatyypin erilaiseen taudin etenemiseen. Tutkimuksessa löydettiin myös useita modifikaatioilla vaimennettuja geenejä, kuten miR-31, BCL2L11, EVC1/2, CDKN1A ja NDRG2. Myös useissa geenisäätelijöissä, kuten transkriptiofaktoreissa ja miRNA:ssa, huomattiin histonien modifikaatioita, mikä johtaa geenien hiljenemiseen (Watanabe 2017).

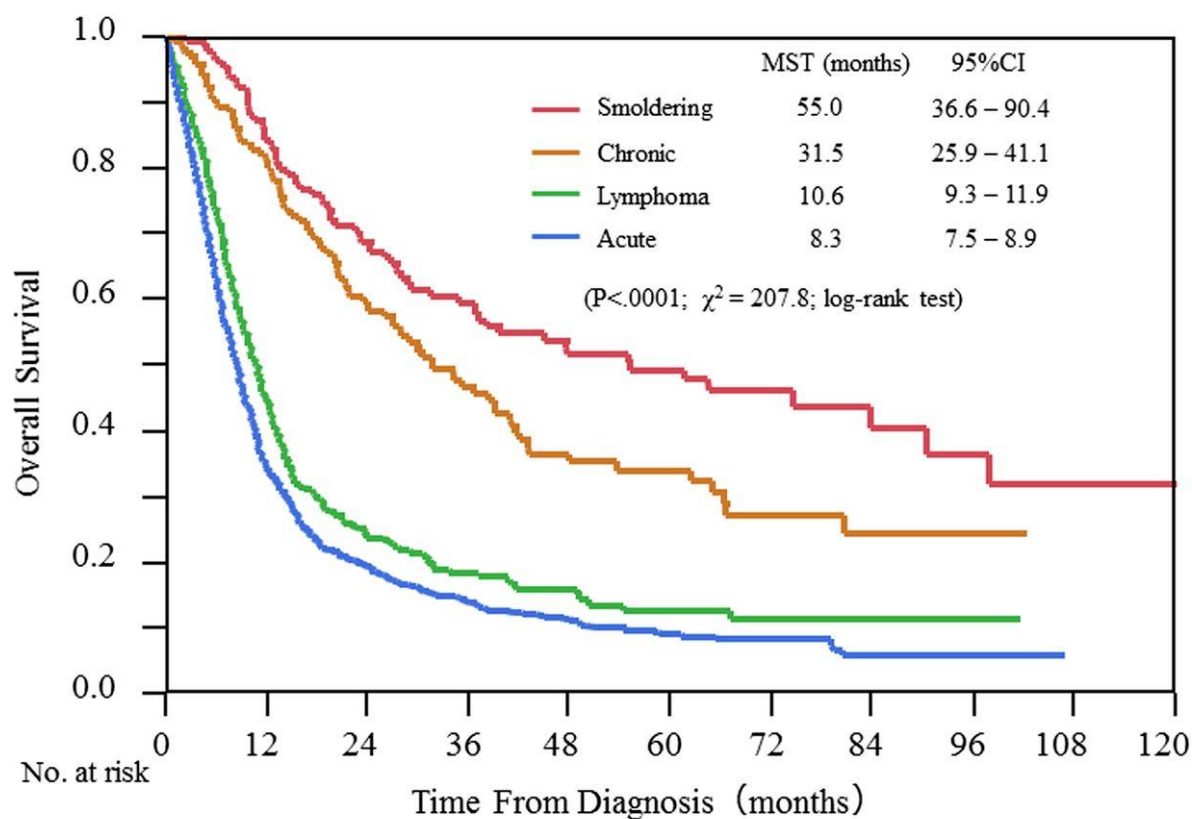
Verrattain uudessa tutkimuksessa löydettiin uusi tapa, jolla HTLV-1 voi vaikuttaa kromatiinin rakenteeseen. Viruksen huomattiin vaikuttavan transkriptionaaliseen repressoriin, CTCF:een, jota pidetään merkittävimpänä kromatiinin rakennetta ja toimintaa säätelevänä tekijänä. Koska HTLV-1 retroviruksena integroi oman genominsa isäntäsolun DNA:han, se pystyy vaikuttamaan geeneihin myös fyysisellä kontaktilla. Sinkkisormiproteiininä CTCF säätelee geeniekspressiota ja kromatiinin rakennetta korkeammalla tasolla sitoutumalla DNA:n insulaattoreihin, eli alueisiin, jotka suojelevat DNA:ta ulkoisilta signaaleilta. CTCF:n todettiin sitoutuvan HTLV-1-proviruksen pX-alueeseen. Vaikutuksia sitoutumisella on useita: geenien tehostajien toiminta estyminen, HTLV-1 lähetti-RNA:n pilkkomisen säätely ja vuorovaikutukset kromatiiniin pitkältikin etäisyydeltä (Satou *et al.* 2016).

MikroRNA:n, eli lyhyiden RNA-molekyylien kato ATL:ssä on havaittu useissa tutkimuksissa. MiRNA:t toimivat soluissa lähetti-RNA:n hiljentäjinä sitoutumalla siihen komplementaarisella osallaan. Geenien luenta siis hillitään post-transkriptionaalisesti. MiRNA:n kato on peräisin

H3K27me3-histonin kertymisestä, mikä aiheuttaa lukuisten geenien hiljentämisen inhibion. Tämän uskotaan olevan suuressa roolissa ATL:n kehityksessä, sillä tämä puute post-transkriptionaalisessa geenien säätelyssä johtaa useiden, kuten solusykliä säätelevien, geenien hyperekspressioon. Häiriöitä voi ilmetä tämän lisäksi myös transkriptionaalisella tasolla (Yamagishi *et al.* 2018).

4. Aikuisen T-soluleukemian hoitokeinot

ATL on edelleen sairaus, joka on hyvin vaikeasti hoidettavissa. Koska aggressiiviset muodot, akuutti ja lymfaattinen leukemia, ovat taudin hallitsevat muodot, myös hoitokeinot ovat yleensä voimakkaat. Hoitamattomana ATL johtaa kuolemaan muutamissa viikoissa tai kuukausissa. Immuunipuolustuksen heikentymisen vuoksi elimistö ei pysty taistelemaan infektioita vastaan, mikä voi olla kuoleman aiheuttaja itse sairauden lisäksi (Tsukasaki & Tobinai 2012). Hoidoista huolimatta ATL-potilaiden eliniänodote on keskimääräisesti hyvin lyhyt ja remissionkin jälkeen sairaus voi puhjeta uudestaan. 1954 potilaan japanilainen tutkimus tarkasteli eliniänodotteita nykyisillä vallitsevilla hoitokeinoilla, ja tulokset olivat vaihtelevia riippuen taudin tyypistä: Keskimääräiset eliniänodotteet olivat 8,3 kuukautta akuutissa, 10,6 kuukautta lymfaattisessa, 31,5 kuukautta kroonisessa ja 55 kuukautta kytevässä tyypissä. Neljän vuoden seurannan jälkeen eloonjääneitä oli vastaavasti 11 %, 16 %, 36 % ja 52 % (Katsuya *et al.* 2015). Tutkimuksessa käytettiin vertailun vuoksi useita solunsalpaajayhdistelmiä. Kuvassa 6 esitetään tutkimuksen tuottamat tautityyppien eloonjäämiskuvaajat.



Kuva 6. ATL-potilaiden eloonjäämiskuvaaja tautityypeittäin. Japanilaisen tutkimuksen (Katsuya *et al.* 2015) tulokset ATL-potilaiden eloonjäämisajoista alatyypin mukaan. Kuvaaja esittää prosentuaalisen lukeman eloonjääneistä diagnoosista kuluneen ajan funktiona. Mediaani eliniänodote (MT) ja 95 % luottamustaso (95%CI) kuvaavat eliniänodotteita kuukausissa. Alla on esitetty tutkimukseen osallistuneiden potilaiden lukumäärä. Kuvan lähde: Katsuya H. *et al.* (2015) on behalf of the ATL-Prognostic Index Project, Treatment and survival among 1594 patients with ATL. *Blood*; 126 (24): 2570–2577.

Kuten edellä on mainittu, tietyt geneettiset muutokset ovat kohtalokkaampia kuin toiset. Esimerkiksi tuumorisuppressoreissa p15 ja p53 tapahtuneet mutaatiot korreloivat suoraan lyhyempään eliniänodotteeseen, riippumatta siitä, sairastaako henkilö akuuttia tai kroonista leukemiaa (Kataoka *et al.* 2018). Myös useita taudin fenotyyppijä on yhdistetty nopeammin etenevään ATL:ään ja näin lyhyempään eliniänodotteeseen. Krooninen ATL esiintyy sekä suotuisana että epäsuotuisana, jossa LDH tasot ovat korkeammat. Tämä johtaa usein nopeampaan taudinkulkuun ja huonompaan

ennusteeseen. Krooninen ATL esiintyy erityisen aggressiivisena korkean veren LDH-, ureatypen ja matalan albumiinitason tapauksessa.

Alatyypistä riippumattomia tekijöitä, jotka korreloivat aggressiivisempaan syöpään ovat huono yleiskunto, yli 40-vuoden elinikä, yli neljän leesio osallisuus, hyperkalsemia (Hermine *et al.* 2018), trombositopenia, eosinofilia, luuytimen osallisuus ja seerumin korkea interleukiini IL-5. Lisäksi geneettisten muutosten luvussa käsitellyt mutaatiot p53- ja deleetiot p16-proteiineissa sekä C-C kemokiinireseptori 4:n (CCR4) ja lung resistance-related -proteiinin (LRP) ekspressio vaikuttavat taudin kulkuun (Tsukasaki & Tobinai 2012). Lisäksi eräässä tutkimuksessa huomattiin, että Karibialla ATL-tapausten eliniänennuste oli huonompi kuin Japanissa. Eri maissa tehtyjä tutkimuksia ATL:stä tulisikin tehdä enemmän, sillä tutkimukset painottuvat edelleen Japaniin, millä saattaa olla vaikutuksia tuloksiin (Zell *et al.* 2014).

Hoitokeinot eri tautityypeissä ovat erilaisia ja hoitosuunnitelma tehdään aina tapauskohtaisesti. Pääasiallinen hoitomuoto on kumminkin sytotoksisten solunsalpaajayhdistelmien käyttö. (Tsukasaki & Tobinai 2012). Muut tällä hetkellä käytössä olevat hoitomuodot ovat sairauden etenemisen seuranta, interferoni alfa (IFN) ja zidovudiini (AZV) -terapia, solunsalpaajayhdistelmät, allogeeninen hematopoieettinen kantasolusiirto (alloHSCT) sekä uusien lääkeaineiden kokeileminen kliinisissä kokeissa.

4.1. Seuranta

Ensimmäinen vaihe diagnoosin jälkeen on kiireettömissä tapauksissa odottelu, sillä suotuisissa tapauksissa solunsalpaajalääkitystä eli kemoterapiaa ei tarvita ehkä vuoteenkaan. Koska hoito tappaa myös terveitä soluja, on kemoterapian välttäminen sairauden alkuvaiheessa toivottavaa. Tarkempi hoitosuunnitelma tehdään sairauden edetessä ja oireiden tullessa vakavemmiksi. Lievempien tyyppien tapauksessa sairauden seuraaminen voi olla riittävää jonkin aikaa, mutta uudet tutkimustulokset suosittelevat nopeampaa hoitamista. Pitkäaikaisessa seurantatutkimuksessa seurattiin lievien ATL-tyyppien eloonjäämistä, jossa potilaat elivät keskimäärin 5,3 vuotta diagnoosista. Tämän perusteella myös krooninen ja kytevä ATL hyötyvät todennäköisesti hoitojen aikaistamisesta (Tsukasaki & Tobinai 2012).

4.1.1. Solunsalpaajayhdistelmät

Solunsalpaajat eli sytostaatit ovat laaja spektri lääkkeitä, joita käytetään syöpäsolujen tuhoamiseen. Erilaisin mekanismein ne estävät syöpäsoluja lisääntymästä esimerkiksi pysäyttämällä solusyklin, mutta samalla vaikuttavat myös terveeseen kudokseen. ATL:n hoidossa ne ovat kumminkin

useimmissa tapauksissa välttämättömiä ja useita tutkimuksia onkin tehty tehokkaampien sytostaattien ja niiden yhdistelmien löytämiseen. III-vaiheen tutkimuksessa huomattiin, että aggressiivisissa ATL-tapauksissa vinkristiini, syklofosfamidi, doksorubisiini ja prednisoni (VCAP); doksorubisiini, ranimustiini ja prednisoni (AMP) ja vindesiini, etoposidi, karboplatiini ja prednisoni (VECP) -kuuri tuotti parempia tuloksia kuin joka toinen viikko suoritettava syklofosfamidi, doksorubisiini, vinkristiini ja prednisoni (CHOP) -kuuri. Vasteet hoitoihin olivat kahden ryhmän välillä 40 % ja 25 %. Kolmen vuoden päästä eloonjääneitä oli 24 % ja 13 %. VCAP-AMP-VECP -yhdistelmän tuottaneet paremmat tulokset johtuivat todennäköisesti sytostaattien suuremmista kertamääristä ja hoitojen tiheyden ja pituuden kasvattamisesta, sekä neljän uuden lääkkeen lisäämisestä hoitoprotokollaan. VCAP-AMP-VECP -hoito oli siis merkittävästi sytotoksisempi, kuin CHOP. Lisäksi hoidossa käytetty karboplatiini ja ranimustiini ovat yhdisteitä, joihin eivät vaikuta ATL:n yleiset geenit, jotka aiheuttavat resistenssiä useisiin solunsalpaajayhdistelmiin. (Tsukasaki et al. 2007, 2009)

4.1.2. Interferoni-alfa (IFN- α) ja zidovudine (AZT)

Interferoni-alfa IFN- α ja zidovudine AZT -yhdistelmähoidosta on esitetty lupaavaa uutta lääkitystä useissa II-vaiheen tutkimuksissa. Yhdistelmän tarkka vaikutusmekanismi on edelleen selvittämättä, mutta zidovudiinin antiviraalinen luonne yhdistettynä sytokiini interferoni-alfa on tuonut varteenotettavan hoitomuodon kemoterapian rinnalle. IFN- α taistelee taudinaiheuttajia vastaan luontaisen immuunipuolustuksen sytokiinin tavoin ja sen eri muotoja käytetään useiden syöpien ja virusinfektioiden hoidossa. Zidovudiini on tymidiinianalogi ja toimii käänteiskopioijaentsyymin inhibiittorina. Sitä käytetään retrovirusten, kuten HIV:n, aiheuttamissa sairauksissa, sillä se estää viraalisen RNA:n kääntämistä DNA:ksi, jolloin virus ei voi liittää genomiaan osaksi isäntäsolun kromosomia.

AZT/IFN- α -hoidon vaste on hyvin vaihtelevaa, eikä sitä suositella lymfaattisen ATL:n hoitoon (Ramos 2017). Hoito toimii myös vain potilailla, joilla ei ole mutatoitunutta p53-proteiinia ja IFN regulatory factor 4-proteiinin ekspressio on matala. Vaikutuksien saavuttamiseksi tarvitaan myös korkeita päiväannoksia: 6-9 miljoonaa yksikköä interferoni-alfaa ja 800-1000 mg zidovudiinia (Tsukasaki *et al.* 2009). Leukeemisia muotoja, myös akuuttia, sairastavat saattavat kumminkin elää vielä useita vuosia taudin etenemättä (Ramos 2017). 209:n potilaan meta-analyysissä tutkittiin AZT/IFN- α , kemoterapian ja näiden yhdistelmien käyttöä. AZT/IFN- α -hoidon vaste oli jopa 66 % ja odotettu elinikä 24 kuukautta, kun taas kemoterapiaa saaneiden 7 kuukautta. Akuuttia ATL:ää sairastaneiden luvut olivat huonommat, 12 ja 9 kuukautta. AZT/IFN- α -hoito johti kumminkin hyviin

tuloksiin pitkällä aikavälillä: kymmenen vuoden päästä potilaiden joukosta eloonjääneitä oli 70 %, akuuttia ATL:ää sairastaneita 75 % ja kytevän ja kroonisen ATL:n alatyypeistä kaikki olivat elossa viiden vuoden tarkastuksen jälkeen. Vaikka lymfaattiiseen ATL:ään hoito ei tehonnut mediaanilla 12 kuukauden eliniällä, muissa muodoissa se tarjosi lupaavia tuloksia potilaille, joille muut hoitokeinot eivät ole sopivia. (Bazarbachi *et al.* 2007, Tsukasaki *et al.* 2009)

4.1.3. AlloHSCT

AlloHSCT eli allogeeninen hematopoieettinen kantasolusiirto on hoitokeino, jolla ATL voitaisiin mahdollisesti kokonaan parantaa. Siinä leukosyyttiantigeeneiltaan yhteensopivalta luovuttajalta, kuten sisarukselta, siirretään veren tai luuytimen kantasoluja potilaaseen (Porkka 2010). Useat haasteet kantasolusiirrossa kumminkin huonontavat hoitotuloksia: Sopivia luovuttajia on vaikea löytää ja siirre voi aiheuttaa hyljintäreaktion, mikä pahimmillaan voi johtaa kuolemaan. Vaikka siirteen saamiseen liittyy usein komplikaatioita, tukimusten mukaan kolmen vuoden jälkeen elossa on 33-45 % potilaista (Tsukasaki *et al.* 2009, Tsukasaki & Tobinai 2012). Kuitenkaan jotkin muut tutkimukset eivät ole näyttäneet näin lupaavia tuloksia, vaan riskisuhde sairauden uusimiseen tai hyljintäreaktioon oli paljon suurempi. AlloHSCT-hoitoa ei suositella, jos sopivaa luovuttajaa ei löydy, potilaalla on oheissairauksia tai potilas on ikääntynyt (Ramos 2017). Kohderyhmä, jolle hoitoa suositellaan, ovat etenkin nuoret ATL-potilaat (Tsukasaki *et al.* 2009).

4.1.4. Uudet lääkeaineet

ATL:n hoitoon kokeillaan useita uusia lääkityksiä ja yhdistelmähoitoja, ja useat tutkimukset ovat näyttäneet lupaaviakin tuloksia. Tällä hetkellä testauksessa olevat lääkkeet ovat muun muassa antimetaboliitit, histonideasetyyli-inhibiittorit, monoklonaaliset vasta-aineet ja proteasomi-inhibiittorit. Lisäksi jo käytössä tai kokeilun alla on useita aineita, kuten immunomodulaattorisia lääkkeitä ja terapeuttisia rokotteita. Näistä toivotaan pelastusta etenkin tapauksissa, joissa ATL on puhjennut uudelleen tai etenee itsepintaisesti muista tavanomaisista hoitokeinoista huolimatta. Tämä onkin useimmiten kohderyhmänä uusien lääkkeiden kokeilussa. (Hermine *et al.* 2018, Tsukasaki & Tobinai 2012)

Antimetaboliitteihin kuuluva kladribiini on puriininukleosidianalogi, joka vastustaa adenosiinideaminaasin hajottavaa vaikutusta. Se on erityisesti B- ja T-lymfosyyttien tuhoamiseen käytetty solunsalpaaja. Tällä hetkellä lääke on käytössä tiettyjen leukemiamuotojen hoidossa Euroopassa, Japanissa ja Yhdysvalloissa. Fosforyloituneena kladribiinia kertyy lymfosyytteihin, joissa korkea deoksytidiinikinaasin aktiivisuus rikkoo solun DNA:ta, jonka seurauksena solu

lopulta kuolee. Lääke toimii muita puriininukleosidianalogeja tehokkaammin, sillä sen toksiset vaikutukset kohdistuvat sekä aktiivisesti jakautuviin, että lepotilassa oleviin soluihin. Tutkimukset eivät ole kuitenkaan asettaneet lääkkeelle suuria odotuksia: II-vaiheen tutkimus keskeytettiin, sillä vaste kladribiiniin oli vain 7 % (Hermine *et al.* 2018).

Kuten aikaisemmin on mainittu, histonien modifikaatiot ovat suuressa roolissa ATL:n etenemisessä. Kromatiinin rakenteen säätelyyn vaikuttavista lääkkeistä toivotaan parannusta tapauksiin, jossa histonien säätelmää geeniekspressiota voitaisiin korjata. Histoniidasetyyli-inhibiittoreihin kuuluva romidepsiini toimii hyperasetyloimalla proteiineja, mukaan lukien histoniproteiineja. Tämä johtaa solusyklin keskeytykseen, solun erilaistumiseen ja apoptoosiin liittyvien vaimennettujen geenien ekspressioon. Romidepsiini on hyväksytty Yhdysvalloissa ihon T-solulymfooman hoitoon (Tsukasaki & Tobinai 2012)

Biologisia lääkkeitä käytetään useimmiten lievempien, eli suotuisan kroonisen ja kytevän ATL:n hoidossa, sillä aggressiivisten muotojen hoitoon niillä ei ole riittävää tehoa. Biologisiin lääkkeisiin kuuluvat monoklonaaliset vasta-aineet ovat yleisessä käytössä useiden sairauksien hoidossa. Niiden etuna on se, että lähes mitä tahansa ainetta vastaan voidaan kehittää yhteensopiva, sitoutuva vasta-aine. Niiden sitoutuminen kohteeseen, eli ATL-solun pintareseptoriin, herättää suotuisassa tilanteessa potilaan oman immuunipuolustuksen toiminnan, jolloin elimistö alkaa itse taistella HTLV-1-infektiota vastaan. ATL-solut ekspressoivat pinnallaan useita proteiineja, joista esimerkiksi CD-25-proteiiniin on kehitetty vasta-aine. Zaclizumab sitoutuu CD-25:een, eli IL-2R-alfaketjuun, jota ekspressoituu useimmissa ATL-soluissa (Hermine *et al.* 2018). Sitoutuminen reseptoriin estää sitä vuorovaikuttamasta IL-2:n kanssa. Tämä aiheuttaa IL-2 riippuvaisesti toimivien ATL-solujen kuoleman (Tsukasaki & Tobinai 2012).

Toinen lupaava monoklonaalinen vasta-aine on defukosyloitu mogamulizumab, jonka kohdereseptori on CC kemoreseptori 4, eli CCR4, joka esiintyy yksinomaan tyyppin 2 auttaja-T-soluissa ja regulatorisissa T-soluissa. CCR4 osallistuu leukosyyttien kulkeutumiseen. Japanissa mogamulizumabia käytetään etenkin itsepintaisen ja muihin hoitoihin vastaamattoman ATL:n hoidossa ja yhdistettynä kemoterapiaan se on toiminut tehokkaasti myös vastikään diagnosoiduissa tapauksissa. Sen toimintamekanismit ovat moninaiset, mikä tekee siitä lupaavan hoitokeinon. Defukosylaation takia sillä on voimakas vasta-aineriippuvainen sytotoksinen vaikutus, mikä on kohdistettu ATL-soluihin. Mogamulizumabin on myös huomattu tuhoavan tehokkaasti HTLV-1-infektoituneita regulatorisia soluja, jotka ovat erityisen hyvin selviäviä ja vaikeasti tuhottavia soluja ATL:ssä. Lääke onkin toiminut hyvin kasvaimia pienentävänä hoitomuotona, kun elimistön omat lymfosyytit hyökkäävät ATL-soluja vastaan (Hermine *et al.* 2018)

Proteasomi inhibiittori bortezomibia käytetään perinteisesti multippelin luuydinsyövän/myelooman ja manttelisolulyymfooman hoidossa (Hermine *et al.* 2018), mutta on tällä hetkellä kliinisen tutkimuksen kohteena Japanissa uudelleen puhjenneen ATL:n hoidossa (Tsukasaki & Tobinai 2012). Sen toiminta perustuu kohdistettuun proteolyysin estoon, kuten I κ B α hajotuksen estämiseen, millä inhiboidaan NF-kB proteiinin aktivaatio. Tämä tapahtuu ubikinoituja proteiineja hajottavan 26S-proteasomikompleksin toiminnan inhiboimisella. Koska 26S vaikuttaa useihin proteiineihin, tämän toiminnan estäminen muuttaa solun signaalointia, mikä lopulta johtaa solun tuhoutumiseen. Uusimmissa tutkimuksissa bortezomibia testataan yhdistettynä EPOCH-solunsalpausyhdistemään, sillä bortezomibilla saattaa olla myös muita syöpälääkkeitä vahvistava vaikutus. Tutkimus on kuitenkin vielä keskeneräinen, eikä vahvistusta tälle teorialle voi vielä antaa (Hermine *et al.* 2018).

4.1.5. Tukeva hoito

Riippumatta hoitokeinosta, on tärkeää tukea ATL-potilaan luontaista immuunipuolustusta. Sairaus itsessään vähentää toimivien T-lymfosyyttien määrää ja useimmissa tapauksissa käytetty sytostaattihoito, mahdollisesti yhdistettynä muuhun lääkitykseen, tuhoaa immuunipuolustuksen soluja. Potilas on tällöin erittäin altis infektioille ja normaalisti harmiton virus- tai bakteeri-infektio voikin koitua kohtaloksi. Silti lähes puolet ATL-potilaista saa vakavan infektion kemoterapian aikana ja jotkin myös sairauden seurannan aikana (Tsukasaki & Tobinai 2012). Koska sieni-infektiot ja *Pneumocystis jirovecii* aiheuttama keuhkokuume ovat ATL-potilailla yleisiä, antifungaalit ja trimetopriimi-sulfametoksatsolihdistelmä kuuluvat ennaltaehkäisevään hoitoon. Antifungaalit eivät ole kuitenkaan välttämättömiä, jos solunsalpaajat eivät ole osa hoitoa. Tropiikissa matkustaneille määrätään yleensä anti-*Strongyloides* lääkkeitä, sillä he ovat saattaneet altistua loisille. *Strongyloidesin* uskotaan mahdollisesti nopeuttavan ATL:n kehitystä, joten oikea hoito on tärkeää. Jos potilas saa samanaikaisesti protonipumpun estäjiä tai kortikosteroideja, ne saattavat edistää loisen kasvua, joten etukäteen on tehtävä testaus loistartunnan varalta. ATL:n aiheuttamaa hyperkalsemiaa hoidetaan itse syöpäkudoksen tuhoamisen lisäksi nesteytyksen ja bisfosfonaattivalmisteiden avulla (Tsukasaki *et al.* 2009).

4.2. Hoitostrategia

Hoitostrategia suunnitellaan aina potilaskohtaisesti, kun tarvittavat tutkimukset, kuten verikokeet, immunofenotyyppitutkimukset ja röntgenkuvaukset on suoritettu. Diagnoosikriteerien perusteella jako alatyyppeihin voidaan tehdä ja hoitosuunnitelmaa alkaa tekemään. Kytevää tai suotuisaa kroonista ATL-tyyppiä sairastavaa potilasta suositellaan yleensä seuraamaan tilaansa, mutta jos havaittavissa on epänormaalisuuksia ihossa tai potilas on altis infektioille, suositellaan hänelle mahdollisesti

AZT/IFN- α -hoitoa. Hyväennusteisen epäsuotuisan kroonisen tai akuutin ATL:n tapauksessa niin sanottu ensi linjan hoito on VCAP-AMP-VECP tai AZT/IFN. Jos ennuste taas on huonompi tai vaste hoidoille on huono, suositellaan alloHSCT-kantasolusiirtoa, mahdollisesti yhdistettynä kemoterapiaan toisen linjan hoitona. Lymfaattisen ATL:n hoidossa VCAP-AMP-VECP-solunsalpaajayhdistelmä on ensi linjan hoito, mutta huonon ennusteen tai vasteen tapauksessa lisäksi suositellaan alloHSCT-hoitoa (Tsukasaki & Tobinai 2012)

Jotta päätelmiä hoidon toimivuudesta ja mahdollisista muutoksista voidaan tehdä, on ATL:n hoitoon määrätty tietyt hoitovastekriteerit. Ne on jaettu kategorisesti täydelliseen remissioon, osittaiseen hoitovasteeseen (Suomen hematologiyhdistys 2010), taudin vakaantumiseen ja etenevään tai uudelleen puhjenneeseen tautiin. Täydellinen remissio määritellään, kun edellä löydettyt kliiniset, radiografiset ja mikroskooppiset havainnot ovat hävinneet. Imusolmukkeiden on oltava normaalin kokoisia, eli alle 1,5 cm poikkimitaltaan ja kaikki muut ennen läpimitaltaan 1,1-1,5 cm kokoiset imusolmukkeet ovat kutistuneet alle sentin kokoisiksi. Epänormaalien T-lymfosyyttien on oltava alle 5 % kokonaislymfosyyteistä, joiden määrä on oltava alle $4 \times 10^9/l$. Myös kasvainmassan on tullut hävitä kokonaan. Varmistamaton täydellinen remissio saavutetaan, kun kasvaimet ovat pienentyneet 75 %, mutta jäljellä on edelleen jäänteitä. Osittainen hoitovaste saavutetaan, kun imusolmukkeet, leesiot ja kokonaislymfosyytit ovat pienentyneet yli 50 % suurimmista arvoistaan. Etenevän tai uudelleen puhjenneen taudin tapauksessa kokonaislymfosyytit ylittävät $\geq 4 \times 10^9/l$ arvon ja epänormaalien lymfosyyttien määrä on lisääntynyt yli 50 % edellisestä mittauksesta. Myös muuten mitattavien leesioden määrä on lisääntynyt 50 % tai uusia on ilmennyt. Vakaana pysynyt sairaus ei täytä mitään edellisistä kriteereistä neljän viikon tarkastelujakson aikana (Tsukasaki *et al.* 2009).

Koska ATL on useimmissa tapauksissa aggressiivisesti etenevä, henkeä uhkaava sairaus, on sen ennaltaehkäisy tärkeä seikka, johon tulee kiinnittää huomiota endeemisillä alueilla. Ensiksikin HTLV-1-viruksen leviämistä tulee hillitä oireettomien kantajien keskuudessa. Tämä onnistuu HTLV-1-seulonnalla verenluovutuksen yhteydessä ja äitien, jotka on todettu kantajiksi, pidättäytymisellä rintaruokinnasta. Näitä molempia on noudatettu Japanissa ja infektioiden määrä on alueittain saatu laskuun. HTLV-1 on mahdollista saada eliminoitua endeemisiltä alueilta kokonaan, sillä viruksen välittymisen veren ja rintamaidon kautta on verrattain uusi löydös ja lisäksi viruksen yleisyys on luonnollisista syistä laskusuunnassa (Tsukasaki & Tobinai 2012) Tutkimukset ovat osoittaneet syntyneiden seropositiivisten lasten määrän olevan laskussa (Iwanaga *et al.* 2009). Toinen askel ATL:n ehkäisyssä on estää sairauden puhkeaminen kantajien keskuudessa. Tässä ei olla vielä onnistuttu, sillä useiden riskitekijöiden tunnistamisesta huolimatta ATL:n puhkeamisen aiheuttava tekijä on edelleen selvittämättä. Siksi uusien hoitomenetelmien etsiminen on edelleen tärkein

keskittymisen kohde sairauden hallitsemisessa. Toiveissa on, että ATL muuttuu sairaudeksi, jonka parantaminen ei ole useimman kohdalla vain mahdollista, vaan todennäköistä.

Kirjallisuusviitteet

Albrecht, B., Collins, N. D., Burniston, M. T., Nisbet, J. W., Ratner, L., Green, P. L., & Lairmore, M. D. (2000). Human T-lymphotropic virus type 1 open reading frame I p12(I) is required for efficient viral infectivity in primary lymphocytes. *Journal of virology*, 74(21), 9828–9835.

Araujo A. MD, Hall W. W. MD (2004) *Annals of Neurology*. Volume 56, Issue 1. American Neurological Association p 10-19.

Associates; The Development and Causes of Cancer. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>

Bazarbachi A., Panelatti G., Ramos J.C., Tortevoe P., Otroek Z., Taylor G., Gessain A., Harrington W., Plumelle Y., Hermine O. (2007) A Worldwide Meta-Analysis on the Use of Zidovudine and Interferon-alpha for the Treatment of Adult T–Cell Leukemia/Lymphoma. *Blood*; 110 (11): 2049.

Ballaun, C., Farrington, G. K., Dobrovnik, M., Rusche, J., Hauber, J., & Böhnlein, E. (1991). Functional analysis of human T-cell leukemia virus type I rex-response element: direct RNA binding of Rex protein correlates with in vivo activity. *Journal of virology*, 65(8), 4408–4413.

Boyman, O., Sprent, J. (2012) The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nature Reviews Immunology* 12, 180–190

Barros, N., Risco, J., Rodríguez, C., Sánchez, C., González, E., Tanaka, Y., Gotuzzo, E., White, A. C., & Montes, M. (2013). CD4+ T cell subsets and Tax expression in HTLV-1 associated diseases. *Pathogens and global health*, 107(4), 202–206.

Bartoe, J. T., Albrecht, B., Collins, N. D., Robek, M. D., Ratner, L., Green, P. L., & Lairmore, M. D. (2000). Functional role of pX open reading frame II of human T-lymphotropic virus type 1 in maintenance of viral loads in vivo. *Journal of virology*, 74(3), 1094–1100.

- Chihara, D., Ito, H., Katanoda, K., Shibata, A., Matsuda, T., Tajima, K., Sobue, T., & Matsuo, K. (2012). Increase in incidence of adult T-cell leukemia/lymphoma in non-endemic areas of Japan and the United States. *Cancer science*, 103(10), 1857–1860.
- Ciminale, V., Pavlakis, G. N., Derse, D., Cunningham, C. P., & Felber, B. K. (1992). Complex splicing in the human T-cell leukemia virus (HTLV) family of retroviruses: novel mRNAs and proteins produced by HTLV type I. *Journal of virology*, 66(3), 1737–1745.
- Cooper G. M. (2000) *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer
- Derse D., Mikovits J., Ruscetti F. X-I and X-II open reading frames of HTLV-I are not required for virus replication or for immortalization of primary T-cells in vitro. *Virology*. 1997 Oct 13;237(1): 123-8.
- Eiraku, N., Novoa, P., da Costa Ferreira, M., Monken, C., Ishak, R., da Costa Ferreira, O., Zhu, S. W., Lorencio, R., Ishak, M., Azvedo, V., Guerreiro, J., de Oliveira, M. P., Loureiro, P., Hammerschlag, N., Ijichi, S., & Hall, W. M. (1996). Identification and characterization of a new and distinct molecular subtype of human T-cell lymphotropic virus type 2. *Journal of virology*, 70(3), 1481–1492.
- Gaglia M. M., Munger K. (2018) More than just oncogenes: mechanisms of tumorigenesis by human viruses. *Current Opinion in Virology*. 32:48-59.
- Gaudray G., Gachon F., Basbous J., Biard-Piechaczyk M., Devaux C., Mesnard J.M. (2002). The Complementary Strand of the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 RNA Genome Encodes a bZIP Transcription Factor That Down-Regulates Viral Transcription. *Journal of Virology* 2002, 76 (24) 12813-12822.
- Georgieva E. R. (2018). Non-Structural Proteins from Human T-cell Leukemia Virus Type 1 in Cellular Membranes-Mechanisms for Viral Survivability and Proliferation. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3508.
- Gessain, A., & Cassar, O. (2012). Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Frontiers in microbiology*, 3, 388.

Ghez, D., Lepelletier, Y., Lambert, S., Fourneau, J. M., Blot, V., Janvier, S., Arnulf, B., van Endert, P. M., Heveker, N., Pique, C., & Hermine, O. (2006). Neuropilin-1 is involved in human T-cell lymphotropic virus type 1 entry. *Journal of virology*, 80(14), 6844–6854.

Gonçalves, D. U., Proietti, F. A., Ribas, J. G., Araújo, M. G., Pinheiro, S. R., Guedes, A. C., & Carneiro-Proietti, A. B. (2010). Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clinical microbiology reviews*, 23(3), 577–589.

Harhaj, E. W., & Giam, C. Z. (2018). NF-κB signaling mechanisms in HTLV-1-induced adult T-cell leukemia/lymphoma. *The FEBS journal*, 285(18), 3324–3336.

Hasegawa, H., Yamada, Y., Tsukasaki, K., Mori, N., Tsuruda, K., Sasaki, D., Usui, T., Osaka, A., Atogami, S., Ishikawa, C., Machijima, Y., Sawada, S., Hayashi, T., Miyazaki, Y., & Kamihira, S. (2011). LBH589, a deacetylase inhibitor, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via activation of a novel RAIDD-caspase-2 pathway. *Leukemia*, 25(4), 575–587.

Hermine, O., Ramos, J. C., & Tobinai, K. (2018). A Review of New Findings in Adult T-cell Leukemia-Lymphoma: A Focus on Current and Emerging Treatment Strategies. *Advances in therapy*, 35(2), 135–152.

Hidaka, M., Inoue, J., Yoshida, M., & Seiki, M. (1988). Post-transcriptional regulator (rex) of HTLV-1 initiates expression of viral structural proteins but suppresses expression of regulatory proteins. *The EMBO journal*, 7(2), 519–523.

Hutchison, T., Malu, A., Yapindi, L., Bergeson, R., Peck, K., Romeo, M., Harrod, C., Pope, J., Smitherman, L., Gwinn, W., Ratner, L., Yates, C., & Harrod, R. (2018). The TP53-Induced Nagashima, K., Yoshida, M., & Seiki, M. (1986). A single species of pX mRNA of human T-cell leukemia virus type I encodes trans-activator p40x and two other phosphoproteins. *Journal of virology*, 60(2), 394–399.

Hutchison, T., Malu, A., Yapindi, L., Bergeson, R., Peck, K., Romeo, M., Harrod, C., Pope, J., Smitherman, L., Gwinn, W., Ratner, L., Yates, C., & Harrod, R. (2018). The TP53-Induced Glycolysis and Apoptosis Regulator mediates cooperation between HTLV-1 p30^{II} and the retroviral oncoproteins Tax and HBZ and is highly expressed in an in vivo xenograft model of HTLV-1-induced lymphoma. *Virology*, 520, 39–58.

- Inoue, J., Itoh, M., Akizawa, T., Toyoshima, H., & Yoshida, M. (1991). HTLV-1 Rex protein accumulates unspliced RNA in the nucleus as well as in cytoplasm. *Oncogene*, 6(10), 1753–1757.
- Iwanaga, M., Chiyoda, S., Kusaba, E. *et al.* (2009) Trends in the seroprevalence of HTLV-1 in Japanese blood donors in Nagasaki Prefecture, 2000–2006. *International Journal of Hematology*, 90, 186–190
- Jesus, J. G., Júnior, R., de Castro-Amarante, M. F., Haddad, S. K., Espreáfico, E. M., Franchini, G., & Alcântara, L. (2015). Role of myosin Va on HTLV-1 p8I protein's traffic to cell surface. *Retrovirology*, 12(Suppl 1), P1.
- Johnson, J. M., Harrod, R., & Franchini, G. (2001). Molecular biology and pathogenesis of the human T-cell leukaemia/lymphotropic virus Type-1 (HTLV-1). *International journal of experimental pathology*, 82(3), 135–147.
- Jones, K. S., Lambert, S., Bouttier, M., Bénit, L., Ruscetti, F. W., Hermine, O., & Pique, C. (2011). Molecular aspects of HTLV-1 entry: functional domains of the HTLV-1 surface subunit (SU) and their relationships to the entry receptors. *Viruses*, 3(6), 794–810.
- Yabes J. M. (2019) Human T-Cell Lymphotropic Viruses (HTLV) [online] Medscape [viitattu 19.10.2020] Saatavissa: <https://emedicine.medscape.com/article/219285-overview>
- Ramos J. C. (2017) Choices and Challenges in the Treatment of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *Oncology Practice* 13, no. 8. p 495-497.
- Kagdi, H. H., Demontis, M. A., Fields, P. A., Ramos, J. C., Bangham, C. R., & Taylor, G. P. (2017). Risk stratification of adult T-cell leukemia/lymphoma using immunophenotyping. *Cancer medicine*, 6(1), 298–309.
- Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A. *et al.* (2015) Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nature Genetics* 47, 1304–1315.
- Kataoka, K., Shiraishi, Y., Takeda, Y., Sakata, S., Matsumoto, M., Nagano, S., Maeda, T., Nagata, Y., Kitanaka, A., Mizuno, S., Tanaka, H., Chiba, K., Ito, S., Watatani, Y., Kakiuchi, N., Suzuki, H., Yoshizato, T., Yoshida, K., Sanada, M., Itonaga, H., ... Ogawa, S. (2016). Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers. *Nature*, 534(7607), 402–406.

Kataoka, K., Iwanaga, M., Yasunaga, J. I., Nagata, Y., Kitanaka, A., Kameda, T., Yoshimitsu, M., Shiraishi, Y., Sato-Otsubo, A., Sanada, M., Chiba, K., Tanaka, H., Ochi, Y., Aoki, K., Suzuki, H., Shiozawa, Y., Yoshizato, T., Sato, Y., Yoshida, K., Nosaka, K., ... Ogawa, S. (2018). Prognostic relevance of integrated genetic profiling in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 131(2), 215–225.

Katsuya H., Ishitsuka K., Utsunomiya A., Hanada S., Eto T., Moriuchi Y., Saburi Y., Miyahara M., Sueoka E., Uike N., Yoshida S., Yamashita K., Tsukasaki K., Suzushima H., Ohno Y., Matsuoka H., Jo T., Amano M., Hino R., Shimokawa M., Kawai K., Suzumiya J., Tamura K. (2015) on behalf of the ATL–Prognostic Index Project, Treatment and survival among 1594 patients with ATL. *Blood*; 126 (24): 2570–2577.

Kazanji, M., Mouinga-Ondémé, A., Lekana-Douki-Etenna, S., Caron, M., Makuwa, M., Mahieux, R., & Gessain, A. (2015). Origin of HTLV-1 in hunters of nonhuman primates in Central Africa. *The Journal of infectious diseases*, 211(3), 361–365.

Kim, Y. M., Geiger, T. R., Egan, D. I., Sharma, N., & Nyborg, J. K. (2010). The HTLV-1 tax protein cooperates with phosphorylated CREB, TORC2 and p300 to activate CRE-dependent cyclin D1 transcription. *Oncogene*, 29(14), 2142–2152.

Koralnik, I. J., Gessain, A., Klotman, M. E., Lo Monaco, A., Berneman, Z. N., & Franchini, G. (1992). Protein isoforms encoded by the pX region of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(18), 8813–8817.

Koralnik, I. J., Fullen, J., & Franchini, G. (1993). The p12I, p13II, and p30II proteins encoded by human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I open reading frames I and II are localized in three different cellular compartments. *Journal of virology*, 67(4), 2360–2366.

Lima M. A. (2008) HTLV Type I and Type II. [online]

Lunning M.A., Horwitz S. (2017) Adult T-cell leukemia/lymphoma [online] Cancer Therapy Advisor [Viitattu 19.10.2020] Saatavissa: <https://www.cancertherapyadvisor.com/home/decision-support-in-medicine/hematology/adult-t-cell-leukemia-lymphoma/>

Martinez, M. P., Al-Saleem, J., & Green, P. L. (2019). Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. *Retrovirology*, 16(1), 21.

Matsuoka, M., & Green, P. L. (2009). The HBZ gene, a key player in HTLV-1 pathogenesis. *Retrovirology*, 6, 71.

Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23–38.

Mukai, R., Ohshima, T. (2014) HTLV-1 HBZ positively regulates the mTOR signaling pathway via inhibition of GADD34 activity in the cytoplasm. *Oncogene* 33, 2317–2328.

National Organization for Rare Disorders [Viitattu 19.10.2020] Saatavissa:
<https://rarediseases.org/rare-diseases/htlv-type-i-and-type-ii/>

Nishioka, C., Ikezoe, T., Yang, J., Komatsu, N., Bandobashi, K., Taniguchi, A., Kuwayama, Y., Togitani, K., Koeffler, H P., Taguchi, H. (2008) Histone deacetylase inhibitors induce growth arrest and apoptosis of HTLV-1-infected T-cells via blockade of signaling by nuclear factor κ B. *Leukemia Research* 32(2) 287-296.

Nosaka, K., Maeda, M., Tamiya, S., Sakai, T., Mitsuya, H., & Matsuoka, M. (2000). Increasing methylation of the CDKN2A gene is associated with the progression of adult T-cell leukemia. *Cancer research*, 60(4), 1043–1048.

Oka, T., Mizuno, H., Sakata, M., Fujita, H., Yoshino, T., Yamano, Y., Utsumi, K., Masujima, T., & Utsunomiya, A. (2018). Metabolic abnormalities in adult T-cell leukemia/lymphoma and induction of specific leukemic cell death using photodynamic therapy. *Scientific reports*, 8(1), 14979.

Parsonnet, J. (1999). *Microbes and malignancy: infection as a cause of human cancers*. Oxford University Press, USA.

Pique, C., & Jones, K. S. (2012). Pathways of cell-cell transmission of HTLV-1. *Frontiers in microbiology*, 3, 378.

Pise-Masison, C. A., Mahieux, R., Jiang, H., Ashcroft, M., Radonovich, M., Duvall, J., Guillerm, C., & Brady, J. N. (2000). Inactivation of p53 by human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax requires activation of the NF-kappaB pathway and is dependent on p53 phosphorylation. *Molecular and cellular biology*, 20(10), 3377–3386.

Poiesz, B. J., Ruscetti, F. W., Gazdar, A. F., Bunn, P. A., Minna, J. D., & Gallo, R. C. (1980). Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(12), 7415–7419.

Porkka K. 2010 (2010) Allogeeninen [online] Hematology [Viitattu 20.10.2020] Saatavissa: <https://www.hematology.fi/fi/allohsct>

Proietti, F. A., Carneiro-Proietti, A. B., Catalan-Soares, B. C., & Murphy, E. L. (2005). Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene*, 24(39), 6058–6068.

Ramassamy J., Tortevoe P., Ntab B., Seve B., Carles G., Gaquière D., Madec Y., Fontanet A., Gessain A. (2020). Adult T-cell leukemia/lymphoma incidence rate in French Guiana: a prospective cohort of women infected with HTLV-1. *Blood Advances*; 4 (9): 2044–2048.

Regulatoriset T-solut [online] Solunetti [Viitattu 19.10.2020] Saatavissa: https://www.solunetti.fi/fi/histologia/regulatoriset_t-solut/2/

Rojo, G., Chamorro, M., Salas, M. L., Viñuela, E., Cuezva, J. M., & Salas, J. (1998). Migration of mitochondria to viral assembly sites in African swine fever virus-infected cells. *Journal of virology*, 72(9), 7583–7588.

Satou, Y., Yasunaga, J., Yoshida, M., & Matsuoka, M. (2006). HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(3), 720–725.

Satou, Y., Miyazato, P., Ishihara, K., Yaguchi, H., Melamed, A., Miura, M., Fukuda, A., Nosaka, K., Watanabe, T., Rowan, A. G., Nakao, M., & Bangham, C. R. (2016). The retrovirus HTLV-1 inserts an ectopic CTCF-binding site into the human genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(11), 3054–3059.

Shimamoto Y., Yamaguchi M., Y Miyamoto Y., Yamaguchi J., Kuribayashi N., Sato H., Nishimura J., Nawata H., Kozuru M. & Shimoyama M. (1990) The Differences between Lymphoma and Leukemia Type of Adult T-cell Leukemia, *Leukemia & Lymphoma*, 1:2, 101-112.

Shimoyama, M. and members of The Lymphoma Study Group (1991), Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukaemia-lymphoma. *British Journal of Haematology*, 79: 428-437.

Suomen Hematologiyhdistys (2010) Seuranta ja vastearvio [online] Hematology [Viitattu 20.10.2020] Saatavissa: <https://www.hematology.fi/fi/book/export/html/5154>

Suzuki, T., Hirai, H., Fujisawa, J., Fujita, T., & Yoshida, M. (1993). A trans-activator Tax of human T-cell leukemia virus type 1 binds to NF-kappa B p50 and serum response factor (SRF) and associates with enhancer DNAs of the NF-kappa B site and CArG box. *Oncogene*, 8(9), 2391–2397.

Suzuki, T., Kitao, S., Matsushime, H., & Yoshida, M. (1996). HTLV-1 Tax protein interacts with cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4A and counteracts its inhibitory activity towards CDK4. *The EMBO journal*, 15(7), 1607–1614.

Tanaka-Nakanishi, A., Yasunaga, J., Takai, K., & Matsuoka, M. (2014). HTLV-1 bZIP factor suppresses apoptosis by attenuating the function of FoxO3a and altering its localization. *Cancer research*, 74(1), 188–200.

The Editors of Encyclopaedia Britannica (2020) Helper T cell [online] Britannica [Viitattu 19.10.2020] Saatavissa: <https://www.britannica.com/science/helper-T-cell>

Thunnissen E., Smith E. F. (2019) Nonsmall-Cell Cancers of the Lung: Pathology and Genetics; PD-L1. *Encyclopedia of Cancer*. 3rd edition. 76-87.

Watanabe T. (2017); Adult T-cell leukemia: molecular basis for clonal expansion and transformation of HTLV-1–infected T cells. *Blood*; 129 (9): 1071–1081.

Tsukasaki K., Utsunomiya A., Fukuda H., Shibata T., Fukushima T., Takatsuka Y., Ikeda S., Masuda M., Nagoshi H., Ueda R., Tamura K., Sano M., Momita S., Yamaguchi K., Kawano F., Hanada S., Tobinai K., Shimoyama M., Hotta T., and Tomonaga M. (2007) VCAP-AMP-VECP Compared With Biweekly CHOP for Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG9801 *Journal of Clinical Oncology* 25:34, 5458-5464.

- Tsukasaki, K., Hermine, O., Bazarbachi, A., Ratner, L., Ramos, J. C., Harrington, W., Jr, O'Mahony, D., Janik, J. E., Bittencourt, A. L., Taylor, G. P., Yamaguchi, K., Utsunomiya, A., Tobinai, K., & Watanabe, T. (2009). Definition, prognostic factors, treatment, and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma: a proposal from an international consensus meeting. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 27(3), 453–459.
- Tsukasaki, K., & Tobinai, K. (2012). Clinical Trials and Treatment of ATL. *Leukemia research and treatment*, 2012, 101754.
- Tsukasaki, K., & Tobinai, K. (2014). Human T-cell lymphotropic virus type I-associated adult T-cell leukemia-lymphoma: new directions in clinical research. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 20(20), 5217–5225.
- Tsukasaki, K., Marçais, A., Nasr, R., Kato, K., Fukuda, T., Hermine, O., & Bazarbachi, A. (2020). Diagnostic Approaches and Established Treatments for Adult T Cell Leukemia Lymphoma. *Frontiers in microbiology*, 11, 1207.
- Watanabe T. (1997). HTLV-1-associated diseases. *International journal of hematology*, 66(3), 257–278.
- Winter, H. Y., & Marriott, S. J. (2007). Human T-cell leukemia virus type 1 Tax enhances serum response factor DNA binding and alters site selection. *Journal of virology*, 81(11), 6089–6098.
- Yamagishi, M., Fujikawa, D., Watanabe, T., & Uchamaru, K. (2018). HTLV-1-Mediated Epigenetic Pathway to Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma. *Frontiers in microbiology*, 9, 1686.
- Yasunaga, J., Taniguchi, Y., Nosaka, K., Yoshida, M., Satou, Y., Sakai, T., Mitsuya, H., & Matsuoka, M. (2004). Identification of aberrantly methylated genes in association with adult T-cell leukemia. *Cancer research*, 64(17), 6002–6009.
- Zell M., Assal A., Konda B., Braunschweig I., Derman O., Kornblum N., Battini R., Verma A., Janakiram M. (2014) Analysis of Large Cohort Shows That Caribbean Adult T Cell Leukemia/Lymphoma Is a Chemotherapy Refractory Disease with Very Poor Prognosis That Behaves Distinctly from Japanese Subtypes. *Blood*. 124 (21): 1685.
- Zhang, L., Wei, J., Wang, L. et al. (2017) Human T-cell lymphotropic virus type 1 and its oncogenesis. *Acta Pharmacologica Sinica* 38, 1093–1103.

Zhao, L. J., & Giam, C. Z. (1992). Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) transcriptional activator, Tax, enhances CREB binding to HTLV-I 21-base-pair repeats by protein-protein interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(15), 7070–7074.

Zhao T. (2016). The Role of HBZ in HTLV-1-Induced Oncogenesis. *Viruses*, 8(2), 34.

zur Hausen, H. (2001) Oncogenic DNA viruses. *Oncogene* 20, 7820–7823.